

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

## NOUVEAUX PRINCIPES D'IMMUNISATION APPLIQUÉS A LA THÉRAPEUTIQUE VACCINANTE

par SIR ALMROTH E. WRIGHT,

Basés sur un travail de recherches fait en collaboration avec  
L. COLEBROOK, M. B. B. S. et J. STORER, M. R. C. S. L. R. C. P.

Pasteur fut le premier qui imagina les principes liés à la vaccination jennérienne; il fut le premier à montrer comment ces principes pouvaient être appliqués à l'infection bactérienne et à concevoir l'idée d'inoculation prophylactique contre toutes les maladies infectieuses. Les dogmes qu'il proclama peuvent être résumés de la façon suivante. Nous les appelons, en vue de ce qui va suivre, code n<sup>o</sup> 1 (ou loi originale pastorienne).

### CODE I

#### La méthode pastorienne originale.

1<sup>o</sup> La condition essentielle de toute méthode prophylactique est de nous rendre maîtres de l'organisme pathogène, ou, si celui-ci n'est pas encore découvert, du virus qui le contient, et d'en préparer un vaccin.

2<sup>o</sup> Le vaccin doit être composé de germes vivants, mais ces germes doivent être atténués, à cause du risque attaché à l'emploi de matériel virulent.

3° Quand on a obtenu un vaccin convenablement atténué, c'est-à-dire un vaccin qui, d'une façon certaine, ne produira qu'une réaction modérée dans l'organisme, la quantité de ce vaccin que l'on devra injecter sera un facteur sans grande importance.

4° Les vaccins bactériens doivent être injectés par la voie sous-cutanée.

5° Attendu que l'action protectrice peut être obtenue seulement après une durée de dix jours ou plus, après la date d'inoculation, la vaccination n'est applicable que chez les individus qui ne sont pas infectés.

6° La protection conférée par le vaccin est toujours *spécifique*; en d'autres termes, la protection est obtenue seulement contre l'espèce d'agent pathogène qui compose le vaccin. En mettant en pratique ces principes qui ne concernent que la prophylaxie, d'importants et notables succès ont été obtenus. En particulier, Pasteur réussit à protéger les moutons et le gros bétail contre le charbon; et après lui, Ferran, et après ce dernier Haffkine, en employant une technique plus précise, appliquèrent les méthodes pastoriennes à l'homme par leurs inoculations anticholériques.

Sur ces entrefaites, poussé à agir ainsi par cette pénible nécessité où l'on se trouve lorsqu'on est sollicité et que l'on est sans moyen d'action, Pasteur s'est adressé à un autre problème qui a trait à l'immunité et a cherché s'il serait possible, par le moyen de la vaccination, d'arrêter le développement de la rage chez un malade mordu par un animal enragé. Dans ce cas particulier, le principe qu'il avait posé, à savoir que la vaccination n'est applicable qu'aux individus non infectés, lui fit supposer qu'aucun résultat ne pouvait être obtenu. Mais l'émotion causée par un tel problème ne lui permettait pas de le considérer comme insoluble, et dans de pareilles circonstances un génie particulier pousse à faire la preuve critique de lois déjà établies, à approfondir tout ce qui n'est pas défini ou qui ne l'est que d'une façon incomplète, et à fouiller davantage les éléments obscurs de notre esprit. Dans ce cas spécial il était inévitablement nécessaire de faire une critique approfondie du principe que la vaccination n'est applicable qu'aux non-infectés, et de définir d'une façon plus précise



les termes de « infecté » et « non infecté ». De cette façon Pasteur s'aperçut, comme on le fit plus tard partout, qu'un malade chez qui le virus de la rage a pénétré devait, en attendant le développement de la maladie, être considéré comme non infecté, et de plus, que si un virus met plus de dix jours à développer la maladie et si la protection par vaccination ne met que dix jours à s'établir, le malade, avant la terminaison de la période d'incubation, se trouve parfaitement apte à recevoir des inoculations préventives. Ce premier pas en avant par lequel Pasteur rompit avec ce qui avait été établi auparavant et qu'il avait lui-même formulé, nous a dotés du traitement préventif de la rage. Comme nous le voyons aussi, de là partit l'idée de l'inoculation thérapeutique. Nous pouvons maintenant compléter la loi de Pasteur de la façon suivante :

#### ARTICLE SUPPLÉMENTAIRE AU CODE DE PASTEUR.

*La vaccination peut être employée pendant la période d'incubation d'une maladie, à la condition que cette période d'incubation soit supérieure à dix jours.* Ceci clôtura le grand chapitre initial de l'immunisation scientifique qui a été élaboré par Pasteur.

Dans ce qui précède, nous avons vu qu'une tension d'esprit émotionnante conduit à scruter de plus près et à approfondir davantage les idées, et que c'est grâce à la clarté qui jaillit de cet examen plus approfondi, que des problèmes se trouvent résolus.

Ces faits, qui s'appliquent à la totalité du domaine de nos connaissances, se trouvent de nouveau vérifiés par les deux progrès réalisés dans le domaine de l'immunisation, progrès qui concernent l'inoculation antityphoïdique. Ces progrès sont :

- a) *Substitution de vaccins tués aux vaccins vivants ;*
- b) *Titrage préliminaire de leur pouvoir prophylactique par la mesure des éléments antibactériens produits dans le sang.*

Ces progrès furent réalisés de la façon suivante :

Le premier, parce qu'on ne voulait pas courir le risque d'inoculer des bacilles typhiques vivants. Le second, parce qu'on ne voulait pas introduire dans la pratique l'emploi d'un

vaccin composé de microbes morts, sans en avoir d'abord prouvé l'efficacité.

Les progrès généraux réalisés dans le domaine de nos connaissances fournissent certains faits qui en dépassent les limites. Au commencement, on admettait que les antigènes nécessaires étaient des produits de métabolisme élaborés par les microbes pendant leur multiplication dans l'organisme; cette conception ne prévalut pas et fut remplacée par une autre qui consiste à considérer que les antigènes en question sont des éléments dérivés du protoplasme bactérien. De plus, le principe général repris par Ehrlich dans la formule suivante : *Corpora non agunt nisi soluta*, poussait à conclure que, dans les vaccins, ce ne pouvaient pas être les germes vivants ou morts qui étaient les vrais antigènes; que les vrais antigènes devaient être des éléments dissous et que, dans les vaccins, les microbes, qu'ils soient morts ou vivants, ne pouvaient être en réalité que les substances mères des antigènes. Plus tard, se produisit ce fait important que Pfeiffer put obtenir chez l'homme une production de substances agglutinantes par l'inoculation de microbes typhiques morts.

En conséquence, on s'attacha tout d'abord, dans les premières inoculations antityphoidiques, à produire des *agglutinines* (1); mais le titrage de celles-ci, tout en démontrant l'immunisation produite par l'injection de microbes morts, donnait trop peu de renseignements sur le cours de cette immunisation. La mesure du pouvoir bactéricide du sang fut alors entreprise et c'est ce qui éclaira toute la question. Par ce moyen (2), il fut établi que, quand une certaine quantité de vaccin typhique, capable de produire des troubles constitutionnels de moyenne gravité, est injectée, l'inoculation est suivie :

1° D'une phase *négative* dans laquelle le pouvoir bactéricide du sang est diminué;

2° D'une phase *positive* dans laquelle le pouvoir bactéricide peut être augmenté jusqu'à 1.000 fois. De plus, quand on

(1) WRIGHT et SEMPLE, Vaccination against Typhoid Fever. *British medical Journal*, 30 janv. 1897.

(2) WRIGHT, Changes effected by anti-typhoid Inoculation in the Bactericidal Power of the Blood. *Lancet*, 14 sept. 1901.



emploi des doses capables de produire des troubles constitutionnels très graves, la phase négative est prolongée et, dans certains cas, d'une façon à peu près indéfinie. Enfin, quand on emploie des doses qui ne produisent que des troubles constitutionnels légers, on obtient une phase positive sans intervention d'aucune phase négative et le pouvoir bactéricide du sang est aussitôt augmenté dans une très forte proportion après un intervalle de vingt-quatre heures.

Ces faits établissent les principes qui régissent ou plutôt devraient régir partout les inoculations prophylactiques : antityphoïdique, anticholérique, antipneumonique, antipesteuse, comme du reste toutes les autres.

De plus, l'observation que les substances protectrices peuvent apparaître dans le sang dans les vingt-quatre heures qui suivent l'injection d'un vaccin est une de celles qui ont une grande importance.

Il apparut clairement que le procédé d'inoculation pendant la période d'incubation n'est pas seulement applicable à la rage avec sa très longue période d'incubation, mais doit être, en théorie, applicable à la fièvre typhoïde, à la fièvre de Malte avec leurs périodes d'incubation de deux semaines, et même, comme il a été soutenu par Haffkine, à la peste avec sa période d'incubation de deux jours seulement. Mais toute la portée de l'application des faits mis en lumière par l'inoculation antityphoïdique n'est pas apparue, tant que la conception d'une période d'incubation n'a pas été approfondie et tant qu'on n'eut pas compris qu'elle concernait une période dans laquelle le microbe se cultive dans l'organisme, non pas d'une façon disséminée, mais en restant localisé à une région. Ce fait suggère que le résultat heureux de la méthode pastoriennne dans le traitement préventif de la rage et, on peut aussi l'ajouter, le résultat occasionnellement heureux des injections antipesteuses pratiquées pendant la période d'incubation de la peste, doivent être dus à une réaction immunisante, développée par le vaccin dans une région qui n'est pas encore infectée.

L'idée qu'une région de l'organisme, non encore infectée, et par conséquent inactive, peut, sous l'influence d'un vaccin, être amenée à porter secours aux régions infectées, est l'idée qui a conduit à la vaccinothérapie.

Nous pouvons maintenant, car ceci est primordial pour établir le domaine de notre nouveau sujet, formuler en une loi les principes que nous venons de considérer.

La loi en question (nous l'appellerons pour plus de commodité *code n° 2*) a été élaborée dans la section de vaccination de Saint-Mary's Hospital, de Londres.

Il est à remarquer que, seuls, les premier, quatrième et septième paragraphes dérivent sans modification des travaux de *Pasteur*.

## CODE II

basé sur les leçons tirées de l'étude des modifications produites dans le sang par l'inoculation de vaccins.

1° Une condition essentielle de tout procédé d'immunisation est de posséder le microbe de la maladie ou, si on le peut, son *virus*, et de l'utiliser pour la préparation du vaccin. Remarquons, entre parenthèses, que puisque, dans l'inoculation prophylactique, les vaccins sont des stocks-vaccins et donnent de bons résultats, il n'est théoriquement pas indispensable d'employer des vaccins directement préparés avec les microbes du malade.

2° Dans tous les cas où les microbes peuvent être cultivés hors de l'organisme, les vaccins doivent être des cultures stérilisées.

3° Les vaccins peuvent être utilisés de différentes façons. Ils peuvent être employés non seulement à titre de prophylaxie, mais aussi comme traitement préventif pendant la période d'incubation. De plus, on peut les employer au point de vue thérapeutique dans toutes les infections *localisées* autres que celles qui se trouvent compliquées par une pyrexie avec auto-inoculations fréquentes et massives. Dans cette dernière classe de maladies, les vaccins sont contre-indiqués, comme aussi dans les processus septicémiques dans lesquels les toxines bactériennes circulent en grande abondance dans le sang.

4° Les vaccins bactériens doivent être injectés par la voie hypodermique.

5° La quantité de vaccin injectée est de toute première



importance. C'est d'elle que dépendent le degré et le genre de la réponse de l'organisme, ainsi que la quantité de substances protectrices produites. Avec des doses faibles de vaccin, ou une auto-inoculation relativement légère, on peut observer, en moins de vingt-quatre heures après l'injection, une phase positive ou, pour mieux dire, un effet épiphylactique ou immunisant. Une augmentation similaire, mais éphémère, connue sous le nom de « fausse ascension » (1) peut être observée au bout de deux heures après l'injection de plus grandes doses de vaccin, ou après de plus fortes auto-inoculations. Après cette phase positive passagère, ces fortes inoculations de vaccin et ces massives auto-inoculations produisent une phase négative ou, pour mieux la définir, un effet apophylactique ou désimmunisant, et cet effet est d'autant plus grand et plus prolongé que la quantité d'antigène introduite dans le sang a été plus grande.

6° Se rapportant à ce qui précède, les règles suivantes de dosage peuvent être établies : dans les opérations prophylactiques entreprises *en milieu non infecté*, la dose de vaccin employée sera celle qui produit la réponse épiphylactique la plus considérable et pour arriver à ce résultat il est permis d'employer des doses qui produisent une phase négative temporaire. Quand on fait des inoculations prophylactiques en période épidémique ou pendant la période d'incubation d'une infection générale, ou généralement dans le traitement d'infections localisées, on doit employer des doses réduites, dans le but d'éviter des troubles généraux et une aggravation temporaire des symptômes, ainsi qu'une diffusion des microbes dans l'organisme ; on doit aussi employer des doses réduites quand on se propose surtout d'obtenir rapidement une amélioration des symptômes généraux. Toutes ces règles peuvent être résumées en un principe général, à savoir : que la dose de vaccin à inoculer varie suivant que le patient est infecté ou ne l'est pas et que, dans le cas où il est infecté, la dose à employer doit être inversement proportionnelle à l'intensité de l'infection.

Des substances antibactériennes élaborées par suite de

(1) WRIGHT. *Studies in Immunisation*. Constable, London, 1909, p. 379.

l'inoculation de vaccin agissent d'une façon spécifique sur la variété de microbe qui a fourni le vaccin, mais il est possible qu'en plus on obtienne des immunisations accessoires.

Nous ne pouvons pas entreprendre de donner ici même un bref exposé de ce qui a été obtenu en appliquant ce nouveau code; il faudrait relater tout ce qui a été fait pendant ces vingt dernières années au sujet des inoculations prophylactiques et thérapeutiques se rapportant aux maladies infectieuses. Mais nous devons attirer l'attention sur le fait que, à part de rares cas isolés, l'inoculation thérapeutique s'est montrée inefficace dans la phtisie fébrile et dans la septicémie streptococcique.

Tout ceci ne doit servir que comme prélude pour une étude des principes qui ont guidé la vaccinothérapie et pour exposer quelques-uns des résultats obtenus par la mise en pratique de certains des nouveaux principes qui se sont fait jour peu à peu pendant ces dernières années.

Nous avons ici le choix entre deux différents modes d'exposition. Nous pourrions commencer par décrire les nouveaux procédés de technique et les nouveaux résultats qu'ils ont fournis en laissant à chacun le soin d'en tirer, à la fin, les principes généraux.

Il est préférable d'indiquer les nouveaux principes qui se sont dégagés sous forme d'un autre code, ce sera le *code III* et nous ne voudrions pas qu'on s'imaginât, en présence de ces conclusions inattendues, qu'il est question ici de revenir sur des principes établis directement par l'expérience. Les changements qui sont apportés le sont seulement à des conclusions basées sur des vues générales. Nous avons en vue ici non seulement les divers paragraphes des lois de *Pasteur*, mais encore la doctrine de la phagocytose qui implique que les leucocytes peuvent tuer les microbes seulement par phagocytose.

Nous désirons également qu'on tienne compte de ce que le code exposé ici résulte exclusivement d'une des expériences faites avec le staphylocoque et le streptocoque; que, jusqu'à présent, on ne l'a utilisée que dans le traitement d'infections dues à ces microbes, et que, jusqu'à ce jour, la question de son application à titre prophylactique n'a pas été étudiée.



## CODE III

basé sur une étude plus détaillée des modifications sanguines produites par l'inoculation de vaccin *in vivo* et *in vitro*.

1° Bien que la nature du microbe infectant doive toujours être déterminée, il n'est pas théoriquement nécessaire que le vaccin employé pour le traitement de l'infection ou l'arrêt de l'incubation provienne de la souche du microbe qui cause la maladie. L'emploi d'un vaccin particulier est suffisamment justifié lorsque ce vaccin a produit une augmentation des substances antibactériennes agissant sur le microbe infectant.

2° Quand des vaccins sont ajoutés au sang en proportion convenable, que ce soit *in vivo* ou *in vitro*, on obtient aussitôt une réaction épiphylactique, et le maximum de cette réaction peut être atteint après un délai très court.

3° La réaction épiphylactique en question consiste en la mise en liberté d'éléments opsoniques et bactériens dérivés des leucocytes, et généralement c'est surtout par l'action chimique ectocytaire, et très peu par la phagocytose avec digestion interne, que l'action bactéricide des leucocytes se manifeste.

4° Les substances antibactériennes dont il est question ici sont polytropiques ; en d'autres termes, elles agissent non seulement sur le microbe qui fournit le vaccin, mais aussi sur d'autres espèces de germes absolument différents.

5° Lorsqu'on a déterminé les doses exactes de vaccin qui peuvent être injectées par la voie intraveineuse, cette méthode d'administration doit être préférée à l'inoculation sous-cutanée, comme présentant une action thérapeutique plus exacte et plus rapide.

6° Dans les septicémies et les autres infections bactériennes intenses, les leucocytes du malade perdent leur pouvoir de réagir sous l'influence du vaccin. Dans de tels cas, il est essentiel, avant d'injecter, de se rendre compte si le sang du malade a conservé son pouvoir de réaction épiphylactique.

7° Lorsque, en raison de l'intoxication des leucocytes, une immunisation active au moyen de vaccin n'est pas possible, la méthode d'immuno-transfusion doit être utilisée ; en d'autres

termes, on doit injecter le sang d'une personne saine qui a donné une réaction épiphylactique positive.

Maintenant que nous avons formulé les nouveaux principes auxquels nous avons abouti, nous allons en examiner les bases. La méthode consiste à ajouter une certaine quantité de vaccin, ou, dans certains cas, de microbes vivants, au sang total ou à ses éléments séparés. Nous allons donner un aperçu des méthodes d'examen du sang qui sont entrées dans la pratique.

### TABEAU I.

#### *Aperçu des méthodes de titrage du sang.*

#### I. — SANG TOTAL.

- |   |   |   |
|---|---|---|
| 1° <i>Mesure du pouvoir hémobactéricide</i><br>(effet bactéricide des leucocytes<br>et du sérum agissant ensemble). | { | Procédé par ensemencement et exo-<br>culture. Procédé par ensemencement<br>et endoculture.                |
| 2° <i>Mesure du pouvoir phagocytaire.</i>   |   | Procédé avec le sang défibriné. Pro-<br>cédé avec les leucocytes lavés et le<br>sérum (sang reconstitué). |

#### II. — SÉRUM.

- |  |   |  |
|--|---|--|
| 1° <i>Mesure du pouvoir bactéricide.</i> | { | Procédé d'ensemencement et d'exo-<br>culture. Procédé d'ensemencement<br>et d'endoculture. |
| 2° <i>Mesure du pouvoir opsonique.</i>   |   |  |

#### III. — LEUCOCYTES.

- 1° *Mesure du pouvoir phagocytaire.*
- 2° *Mesure de la migration spontanée et des réactions chimiotactiques.*
- 3° *Mesure du pouvoir bactéricide externe ou pouvoir de tuer les microbes extra-cellulaires.*
- 4° *Mesure du pouvoir opsono-génétique.*

#### IV. — MESURE COMBINÉE DU POUVOIR PHAGOCYTAIRE, DU POUVOIR OPSONIQUE ET DE LA CAPACITÉ PHAGOCYTAIRE DES LEUCOCYTES : PROCÉDÉ CHIASTIQUE.

Il est nécessaire de donner au sujet de ces méthodes une brève description; commençons d'abord par la mesure du pouvoir bactéricide du sang total.

#### Méthode de mesure de l'action hémobactéricide.

Deux procédés permettent de la mesurer. Dans le premier on mélange un volume connu de sang défibriné avec des doses croissantes de dilution de culture bactérienne puis, après un



intervalle déterminé, on dilue avec du bouillon nutritif. Enfin on peut laisser pousser les microbes survivants, soit dans le sang dilué avec du bouillon, soit en l'étendant sur la surface d'un milieu gélosé.

La deuxième méthode de mesure du pouvoir bactéricide du sang total n'est applicable que lorsqu'il s'agit de microbes pouvant pousser en sérum (*sérophytes*). C'est le procédé d'endoensemencement et d'endoculture (*implanting and inculturing*); le principe de cette méthode est d'ensemencer des quantités dosées de microbes dans le sang, d'introduire le sang ainsiensemencé dans des tubes capillaires très fins ou mieux dans des « cellules-lames » (*slide-cells*); on laisse alors le sang tuer les microbes

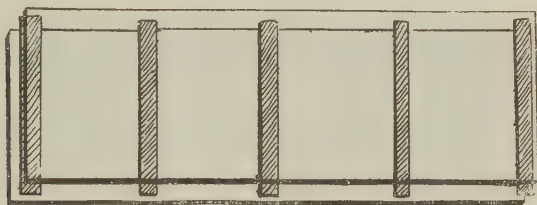


FIG. 1. — Cellule-lame (Slide cell).

qu'il est capable de tuer; et on favorise le développement des microbes survivants par une incubation, jusqu'à ce qu'on observe des colonies.

Les cellules-lames sont faites avec des lames porte-objet ordinaires pour microscopie. On prend une lame stérilisée et on y superpose quatre compartiments formés de petites barres de papier trempées dans de la vaseline très chaude, qu'on dispose une à chaque bout et les autres à des distances égales sur la lame; on prend alors une autre lame, on la passe dans la flamme et on l'applique en appuyant immédiatement la face chauffée sur les morceaux de papier vaseliné disposés sur la précédente.

Le papier employé pour cet usage doit être d'une épaisseur déterminée, de façon à donner des lames de sang d'épaisseur convenable et uniforme. Si les couches de sang sont trop épaisses, les colonies qui poussent n'apparaissent pas bien. Si, au contraire, elles sont trop minces, les leucocytes sont trop distants des microbesensemencés et, de plus, il n'y a pas une

épaisseur suffisante de globules rouges pour montrer nettement les colonies. Une épaisseur convenable et égale de la couche de sang est obtenue en employant pour les barres du papier épais d'environ  $1/12$  de millimètre et en disposant les lames de façon à tenir le côté convexe en haut.

Voici en détail la façon de mesurer le pouvoir hémobactéricide avec la cellule-lame :

On commence par faire une série de dilutions décroissantes de culture bactérienne ; ensuite on prend une série de volumes de sang défibriné de 50 millimètres cubes, et l'on ajoute à chacun 2 *mm. c.* 5 de l'une des dilutions de culture à l'aide d'une pipette capillaire effilée en pointe fine à son extrémité ; ensuite,

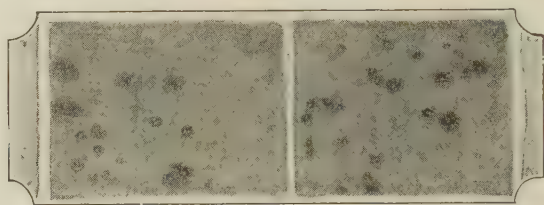


FIG. 2. — Colonies après l'ensemencement de staphylocoques dans un sang normal.

après un mélange soigné, on introduit le sang ainsi ensemené dans l'un des compartiments de la cellule-lame. Auparavant, les bords de la cellule-lame sont stérilisés de nouveau en les passant dans la flamme, et la lame supérieure est légèrement repoussée, de façon à ce que la lame inférieure forme un point d'appui pour placer la pipette qui sert à introduire le sang (fig. 1).

Quand tous les compartiments de la cellule-lame ont été remplis avec la quantité de sang qui leur est destinée, la lame supérieure est ramenée à sa position primitive et les bords sont soigneusement fermés en les enduisant avec de la paraffine très chaude.

Après vingt-quatre heures d'incubation, les colonies de staphylocoques se montrent sur le fond écarlate de sang sous forme d'une zone décolorée, entourée de pourpre foncé, puis, après quelques jours encore, cette couleur pourpre s'efface et la colonie est représentée par une petite tache blanchâtre.



Lorsque, au lieu d'ensemencer dans du sang défibriné, nous ensemençons dans du sang normal qui se coagule dans la cellule-lame, un phénomène additionnel attire l'attention : chaque colonie est entourée d'un anneau ; c'est absolument comme si nous avions pris une plaque de gélose sur laquelle poussent des colonies de staphylocoques et que, prenant un emporte-pièce d'un diamètre supérieur à ces colonies, nous l'enfonçons dans le milieu de culture, le retirant ensuite, en laissant une incision circulaire autour de chaque colonie.

On peut penser que les anneaux qui encerclent les colonies de staphylocoques dans le sang délimitent les régions dans

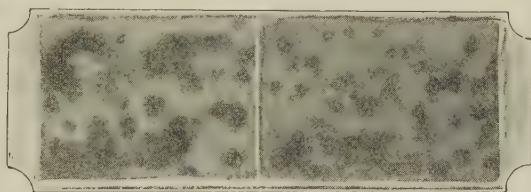


FIG. 3. — Colonies après l'ensemencement de la même quantité de staphylocoques dans le sang d'un malade atteint d'une endocardite maligne.

lesquelles le réseau fibrineux a été digéré par un ferment tryptique produit soit par les microbes, soit par les leucocytes qui se sont rassemblés autour d'eux.

Après ces explications de détail, nous revenons à une considération plus générale sur la mesure du pouvoir hémobactéricide. Remarquons que, dans le sang au repos tel qu'il est *in vitro*, les conditions pour que la phagocytose s'effectue sont certainement beaucoup plus favorables que celles qui sont offertes dans la circulation.

Dans ce torrent rapide, les leucocytes n'ont que de rares occasions d'absorber des microbes. Ils sont comme un poisson qui, au lieu de remonter le courant ou de le descendre en allant plus vite, se trouve passivement entraîné côte à côte avec tous les détritits.

Au contraire, dans les conditions de tranquillité que leur procure la réaction *in vitro*, les leucocytes seront capables de se rassembler autour de leur proie microbienne.

### Méthode pour mesurer le pouvoir phagocytaire du sang.

On ajoute un volume de la suspension microbienne à deux volumes de sang défibriné; ou, pour se rapprocher davantage de la technique opsonique, on utilise, au lieu de sang défibriné, les globules lavés du sang à examiner; puis, pour reconstituer le sang primitif, on prend un volume de ces globules lavés, auquel on ajoute un volume de sérum et enfin un volume de suspension microbienne.

### Méthode pour mesurer le pouvoir séro-bactéricide.

Comme lorsqu'il s'agissait du sang total, nous avons ici deux méthodes à notre disposition: nous pouvons, comme nous l'avons indiqué plus haut à propos du sang, ensemercer, puis cultiver au dehors (*explant*). Lorsque nous opérons avec des microbes *sérophytiques*, tels que le staphylocoque et le streptocoque, nous pouvons aussi ensemercer et endocultiver (*implant and inculture*) en remplissant avec le sérum de fins tubes capillaires et laissant l'incubation se produire. Par cette méthode nous obtenons, comme on le voit sur la figure 4, des colonies tout à fait nettes et séparées. Le nombre de celles-ci correspond au nombre de microbes ensemençés dans le cas d'un sérum *non bactéricide*, et, dans le cas d'un sérum *bactéricide*, au nombre de microbes restés vivants. Nous pouvons ainsi, par ce procédé, comparer le pouvoir bactéricide de deux sérums et, pour pousser plus loin le contrôle, nous pouvons compter aussi le nombre de colonies qui se développeront en bouillon nutritif. Mais, dans le cas du bouillon, étant donnée la forme diffuse des colonies, nous devons nous borner à ensemercer moins de cent microbes pour un volume de 50 millimètres cubes et nous devons employer des tubes capillaires d'un diamètre tel qu'un volume de 50 millimètres cubes occupe une longueur qui ne soit pas inférieure à 25 ou 30 centimètres; et, de plus, nous devons éviter très soigneusement toute agitation mécanique (1).

(1) La méthode de culture en tubes capillaires a été employée il y a environ cinquante ans par Salomonsen pour l'isolement des microbes à partir de sang putride.



Expériences dans lesquelles un ensemencement dosé de microbes vivants est pratiqué dans le sang *in vitro*. Expériences d'endoculture.

Laissant de côté pour un instant ce que nous aurions encore à dire au sujet des méthodes de dosage du pouvoir antibactérien du sang, nous allons étudier ce qui se produit quand on pratique un ensemencement mesuré des microbes et nous allons tâcher de nous représenter d'avance ce qui doit se produire suivant nos prévisions. De cette façon, les résultats se graveront davantage dans notre esprit, qu'ils soient exactement conformes à notre attente ou qu'ils en diffèrent.

Si l'on avait demandé à quelqu'un de dire d'avance ce qui résulterait de l'ensemencement des microbes vivants dans le sang, il aurait répondu *a priori* que plus les microbes seraient ajoutés à doses faibles, plus serait grande la proportion de ces microbes détruits et, qu'après une certaine limite, 100 p. 100 des microbes ajoutés seraient morts. Et il aurait ajouté qu'en ensemençant de cette façon, plus on ajouterait de microbes, plus le pourcentage de microbes survivants augmenterait d'une façon parfaitement régulière.

Voyons maintenant ce qui va arriver. Distinguons ici entre sang et sang. Je vais dire d'abord ce qui arrive lorsque je prends mon propre sang et que j'y ensemence des microbes en quantités graduées. Je commence avec mon propre sang, car le fait qu'il possède un nombre de leucocytes inférieur à la normale, et un sérum qui a une action très peu bactéricide sur le staphylocoque, le rend particulièrement favorable pour les expériences qui nous intéressent. On va trouver à la suite, dans le tableau II, un échantillon d'une expérience qui fut pratiquée plusieurs douzaines

FIG. 4. — Staphylocoques poussant dans le sérum en forme de colonies séparées.

de fois, dont les résultats furent toujours concordants. L'expérience dont il s'agit ici fut pratiquée en double par moi-même et un autre observateur :

TABLEAU II. — Ensemencement de dilutions graduées de culture de staphylocoques dans une série de cellules de 40 millimètres cubes de sang défibriné de A. E. W.

Les chiffres représentent le nombre de colonies de staphylocoques développées après vingt-quatre heures d'incubation en cellule-lame.

Observateur A				Observateur B			
ENSEMEN- CEMENT par cent.cube de sang	NOMBRE de microbes ensemencés et colonies trouvées dans 40 millim. cubes de sang		POUR- CENTAGE de microbes survivants	ENSEMEN- CEMENT par cent. cube de sang	NOMBRE de microbes ensemencés et colonies trouvées dans 40 millim. cubes de sang		POUR- CENTAGE de microbes survivants
	ensemenc.	trouvés			ensemenc.	trouvés	
8.400	336	64	19	9.600	384	74	19
4.200	168	28	17	4.800	192	44	23
2.100	84	24	28	2.400	96	27	28
1.050	42	7,5	18	1.200	48	13	27
525	21	11,5	55	600	24	15	63
262	10,5	5	51	300	12	6	50
131	5	5	100	150	6	5	100
66	3	7		75	3	5	
33	1,5	1,5		38	1,5	2	
	671	153	22,8		766	191	24,9

On verra que nous avons ici, avec des ensemencements de 10.000 à 150 staphylocoques par cent. cube, une proportion de microbes tués de 78,8 et 76,3; et avec des ensemencements inférieurs à 150 staphylocoques par cent. cube, il n'y en a aucun de tué; en d'autres termes, avec un ensemencement modéré, la proportion de survivants est de 22 p. 100 et avec des ensemencements de microbes en nombre très faible, on a une proportion de survivants de 100 p. 100.

Ces chiffres parlent, à mon avis, d'une façon absolument claire. Ils nous disent que nous avons dans notre sang un appareil primaire et un appareil secondaire de défense contre l'infection, c'est-à-dire un système *phylactique* et un système *épiphylactique*.



Le premier se sert du mécanisme phagocytaire et, lorsque le sérum possède une action bactéricide, l'un et l'autre agissent également avec ces deux moyens sur desensemencements microbiens à faibles doses et sur les septicémies légères subinfectieuses. Le mécanisme de la défense épiphylactique, se servant, comme nous le verrons, d'éléments antibactériens libérés par les leucocytes quand ces derniers ont été excités par l'antigène, agit dans les cas d'ensemencement bactérien plus abondant et d'infections sanguines plus graves.

A la lumière fournie par cette conception, interprétons maintenant les résultats portés dans le tableau. Nous voyons que, dans ce cas, le mécanisme de défense primitive dans le sang en question est parfaitement inefficace, alors que la défense secondaire est jusqu'à une certaine limite efficace.

Tandis que le sang ensemencé avec 33 microbes par cent. cube ne peut en tuer un seul, lorsqu'il est ensemencé avec 10.000 par cent. cube il en tue 2.000 (1). Cette action exaltée indique qu'il a été provoqué ici une réponse *épiphylactique*, et toutes les fois qu'il est question d'une action *bactéricide* du sang, nous devons établir des distinctions entre ce qui se passe lorsqu'il s'est produit une réponse épiphylactique et lorsque celle-ci ne s'est pas produite.

Mais, pour comprendre et généraliser en toute sécurité, nous devons considérer non seulement les sangs qui ont un mécanisme de défense phylactique faible, mais aussi ceux qui en possèdent un fort.

Si nous prenons un sang qui a son pourcentage normal de leucocytes et un sérum qui a un pouvoir bactéricide appréciable, et si nous ensemençons graduellement avec du staphylocoque, pour les doses dépassant mille germes par cent. cube, leur destruction est totale; pour desensemencements plus élevés nous avons une destruction incomplète, avec (comme règle), au début, une augmentation du pourcentage des survivants; puis ensuite une diminution, puis enfin une nouvelle augmentation.

Avec desensemencements de 10.000 à 20.000 staphylo-

(1) Lorsque nous nous occupons d'ensemencements microbiens et d'infections, nous devons faire une différence entre des doses sub-vaccinantes et vaccinantes optima ou critiques.

coques (lorsqu'il s'agit de sangs à pouvoir bactéricide efficace, il semble que ce soient les doses optimum d'ensemencement) nous n'avons pas plus de 1 à 2 p. 100 de survivants.

Si nous avons égard au côté pratique de la question, il saute aux yeux qu'il sera difficile d'avoir une démonstration claire d'une réponse épiphy lactique à l'aide de la cellule-lame dans le cas de sang activement bactéricide. La première difficulté est créée par le fait qu'avec les ensemencements abondants, nécessaires ici, une numération précise des colonies devient impossible du fait qu'elles empiètent les unes sur les autres, vu leur grand nombre; une seconde difficulté est créée par le fait que, quand au lieu de partir d'une base du pouvoir phylactique, voisine de zéro, nous partons d'une base élevée, la réponse épiphy lactique ne peut plus être observée clairement. Une troisième difficulté est créée par le fait qu'au lieu d'obtenir, comme plus haut, avec des ensemencements vaccina nts, un effet bactéricide entièrement dû à la réponse épiphy lactique, nous obtenons, lorsque l'appareil primaire de défense est efficace, un résultat qui est dû en partie au facteur phylactique et en partie au facteur épiphy lactique.

Ces difficultés peuvent être atténuées en réduisant le pouvoir phagocytaire des sangs fortement bactéricides. Au lieu d'utiliser en proportion normale le sérum et les globules obtenus en défibrinant le sang, nous pouvons diluer le sang par addition de sérum et opérer ainsi avec davantage de sérum et moins de leucocytes. Ou encore nous pouvons, en mettant à l'étuve notre sang non défibriné, pendant une demi-heure, dans des tubes capillaires fins, diminuer, par leur accollement aux parois, le nombre des leucocytes. Ou enfin, en combinant ces deux méthodes, nous pouvons obtenir un sang qui est en même temps appauvri en leucocytes et dilué avec du sérum. Un tel sang ne ressemble pas tout à fait à un sang faible au point de vue du pouvoir phylactique, car son sérum exerce une action bactéricide sur le staphylocoque; néanmoins il se comporte d'une façon similaire. Des ensemencements modérés ne seront plus tués intégralement et, avec des ensemencements diminuant en proportion géométrique, on obtiendra une queue caractéristique de microbes survivants. En ayant en vue cette queue et en reportant en un tableau les résultats obtenus



en ensemençant des microbes en proportions géométriques décroissantes (tel que le tableau n° 2), nous saurons s'il s'est produit ou non une réponse épiphylactique. Afin de faciliter grandement mon exposition, je dénommerai le premier chiffre, dans chaque colonne d'ensemencement ou de résultat, le *Caput*, et tous les chiffres qui le suivent le *Cauda*. En se reportant maintenant au tableau II, à la colonne des ensemencements, on remarquera que le nombre de microbes dans le *Caput* doit toujours dépasser d'une fraction, qui correspond au nombre de dilutions, le nombre total de microbes dans le *Cauda*. Si maintenant nous trouvons, dans la colonne des résultats, le nombre de colonies dans le *Caput* sensiblement le même que dans les *Cauda*, nous devons conclure que l'action bactéricide du sang ne varie pas avec l'importance de l'ensemencement. Si les colonies dans le *Caput* sont plus nombreuses que celles dans les *Cauda*, la conclusion est que l'action bactéricide du sang augmente quand l'ensemencement est réduit; et c'est ce qui arriverait inévitablement si le sérum exerçait une action bactéricide. Mais si les colonies, dans le *Caput*, sont définitivement dépassées en nombre par celles des *Cauda*, pourvu que les microbes ne soient pas très nombreux dans le premier échantillon de sang au point de gêner réciproquement leur développement, nous pouvons conclure assurément que l'action bactéricide du sang augmente en même temps que l'importance de l'ensemencement; en d'autres termes, qu'il s'est produit une réponse épiphylactique.

Si nous parcourons maintenant, en descendant d'une façon méthodique la colonne des résultats, et comparant le nombre des colonies dans chaque échantillon successif de sang avec le nombre des deux ou trois échantillons suivants, il est possible de déterminer le moment où la réponse épiphylactique sera obtenue.

Expérience montrant que lorsqu'on ensemence des microbes en proportion géométriquement décroissante dans un sang à pouvoir bactéricide efficace, et aussi dans le même sang dilué avec du sérum, ce dernier sang fournit, en contraste avec le sang non dilué, dans le *Cauda*, plus de colonies que dans le *Caput* :

TABLEAU III.

NOMBRE de staphylocoques vivants ensemencés dans des échantillons de 50 cent. cubes de sang	NOMBRE DE COLONIES DE STAPHYLOCOQUES QUI SE DÉVELOPPENT DANS			
	Sang non dilué	Sang dilué avec la moitié de son volume de sérum	Sang dilué avec un volume égal de sérum	Sang dilué avec le double de son volume de sérum
100	1	3	4	3
50	0	1	3 (?)	5
25	0	1	4	5
12	1	0	1	1
6	0	0	0	0

Maintenant que nous avons vu que la réponse épiphylactique peut être provoquée dans des échantillons de sang à pouvoir phylactique faible ou élevé — et tous nos procédés d'examen de sang le confirment — nous ferons bien, avant d'aller plus loin, de voir si la doctrine de la défense phylactique et épiphylactique qui a été développée ici s'accorde avec les faits d'observation clinique journalière.

Trois types de cas doivent être envisagés :

1° Premièrement, il y a les infections (telle que l'endocardite à streptocoque) d'une évolution progressive et presque toujours fatale. Dans ce type d'infection, il y a une fièvre modérée, et peu de troubles généraux avec, pendant un long espace de temps, très peu de microbes dans le sang. Ces cas peuvent être expliqués par ce fait que le mécanisme de la défense n'a abouti à rien et que l'action épiphylactique n'a jamais été provoquée.

2° Il y a des infections (telles que la pneumonie aiguë pri-

maire) intenses dès le début, avec température élevée, intoxication bactérienne massive, et un cycle qui se termine rapidement soit par la mort, soit par le rétablissement marqué par une crise. Les cas de guérison peuvent être expliqués par la conception que le mécanisme épiphyllactique, bien que fonctionnant tardivement, fonctionne avec efficacité; dans les cas se terminant par la mort, on peut supposer que le mécanisme épiphyllactique a été entravé par l'intoxication bactérienne.

3° Le troisième type d'infection est représenté soit par une fièvre hectique régulière, telle qu'on en voit dans la phthisie et les suppurations fermées, soit par la fièvre à grandes oscillations qui accompagne les frissonnements de la septicémie streptococcique intense.

Dans ce cas nous pouvons supposer, comme nous y autorisent les observations que nous possédons sur la question du pouvoir opsonique et bactéricide, que chaque fois que le poison microbien se trouve en circulation en quantité suffisante, le mécanisme de la défense épiphyllactique entre en jeu avec un résultat momentanément satisfaisant.

En examinant les phénomènes infectieux du point qui nous est suggéré ici, nous devons nous poser la question de savoir si, dans tous ces cas, il ne serait pas possible de mettre en marche d'une façon efficace le mécanisme de la défense épiphyllactique par l'introduction directe de vaccin dans le sang.

Les doses convenables à inoculer dans ce cas (nous les appellerons *doses critiques*) devraient être celles qui, agissant avec les éléments microbiens déjà en circulation dans le sang, provoqueraient chez le malade la réponse maximum. Si, de cette façon, on pouvait provoquer ou renforcer la réponse épiphyllactique à l'infection, on en tirerait les avantages suivants :

1° L'intoxication des leucocytes serait évitée (c'est elle qui inhibe la défense phagocytaire et la défense épiphyllactique);

2° On éviterait au malade cette intoxication systématique intense qui menace la vie du malade avant qu'ait commencé le combat qui aura pour enjeu sa vie ou sa mort;

3° Enfin, le patient n'éprouverait pas les grands dommages causés à ses tissus au siège de l'infection.



Expériences d'inoculation de microbes morts  
et de microbes vivants dans le sang *in vitro*;  
Méthode d'endoculture (*inculturing*).

Revenons à nos faits expérimentaux et examinons ce qui va se produire en introduisant dans le sang, au lieu de microbes vivants seuls, une partie de microbes vivants et une partie de morts. On peut inoculer :

1° Les germes morts, dans le sang, les premiers; puis, ensuite, les microbes vivants. Cette méthode est à rapprocher de celle usitée dans les inoculations prophylactiques pratiquées avec des microbes morts et suivies d'inoculation d'essai avec germes vivants et virulents, ou d'une exposition à une contamination.

2° On peut encore inoculer dans le sang en même temps les microbes morts et les microbes vivants.

3° Ou enfin, on peut inoculer d'abord les microbes vivants, puis ensuite les microbes morts. Ceci serait à rapprocher d'une vaccination pendant la période d'incubation et de la vaccinothérapie.

Voici les résultats obtenus :

Mettons, tout d'abord, de l'ordre dans nos idées et voyons s'il y a réellement une ligne de démarcation entre vaccination et épreuve (*assaying*) et demandons-nous si nous nous faisons une idée suffisamment claire de ce que nous appelons *dose vaccinale* et *dose d'épreuve* (test). Cela va sembler peut-être une question oiseuse et on pensera sans doute qu'on peut la résoudre en définissant la *dose vaccinale*, celle qui vient en premier lieu, qui provoque la réponse épiphyllactique et qui est constituée généralement par des microbes morts; et en définissant *dose d'épreuve* celle qui vient ensuite, qui est constituée par des microbes vivants et qui montre que l'effet épiphyllactique a été obtenu.

Cependant, à vrai dire, cette explication ne va pas au fond des choses. Elle s'en tient à une simple considération superficielle des faits et ne concerne que l'immunisation prophylactique.

Quand nous passons au cas d'inoculation pendant la période d'incubation et à la vaccinothérapie, les termes de dose vaccinale et dose d'épreuve doivent être interprétés différemment. Les microbes vivants qui se sont fixés dans l'organisme agissent ici comme une dose d'épreuve, et les microbes morts injectés ensuite opèrent comme dose vaccinante. Mais on

pourrait continuer à soutenir que vaccination et épreuve sont deux opérations séparées, et que, dans les inoculations thérapeutiques, c'est seulement l'ordre des doses qui a été changé.

Si nous passons au cas des réponses épiphyllactiques ou apophyllactiques provoquées en ensemençant des microbes vivants dans le sang, il est clair que la distinction entre vaccination et épreuve ne peut plus être maintenue. Nous n'avons pas là deux opérations séparées et indépendantes, mais une opération simple et indivisible de vaccination et d'épreuve. Et naturellement, ceci s'applique de même aux infections septicémiques. Ici les microbes infectants sont les agents qui produisent, suivant le cas, soit la réponse épiphyllactique, soit la réponse apophyllactique, et ils fonctionnent en même temps comme indicateurs des modifications produites.

Voici un autre point qui se rapporte aussi au même sujet et qui demande à être pris en considération et, d'ailleurs, dont il a déjà été parlé. A propos de la discussion sur les vaccins vivants et tués, nous avons vu que ce ne sont pas les microbes vivants ou morts qui agissent comme antigène, mais bien les éléments solubles qui en dérivent, et nous avons vu aussi que ces éléments solubles proviennent indifféremment des microbes vivants ou morts. Il s'ensuit que tous les microbes, qu'ils soient morts ou vivants, apporteront leur contribution au résultat final dans les trois cas suivants :

1° Soit qu'on injecte des microbes morts et des microbes vivants simultanément, ou l'un après l'autre dans le sang;

2° Soit que des microbes vivants soient introduits dans un organisme déjà vacciné (sous forme d'infection abortive ou comme dose d'épreuve);

3° Soit que des microbes morts soient inoculés dans un organisme déjà infecté. Et particulièrement, en ce qui concerne les inoculations thérapeutiques, il sera important de remarquer que la dose réellement agissante (dose qui produira, suivant le cas, un effet épiphyllactique ou un effet apophyllactique) sera dans tous les cas la dose d'antigène introduite sous forme de vaccin, augmentée de celle que fournissent les microbes infectants.

Ceci est l'analyse raisonnée de principes bien établis; du principe qui dit que, dans les opérations prophylactiques, nous pouvons employer une dose de vaccin considérable, car ici

l'élément vaccinal actif apporté de l'extérieur ne s'additionnera pas avec un élément venu de l'intérieur; c'est aussi l'analyse du principe de l'inoculation thérapeutique, à savoir que nous devons considérer avec grand soin l'intensité de l'infection afin de pouvoir introduire, sous forme de vaccin, une quantité d'autant plus faible qu'une quantité plus forte lui sera adjointe venant de l'intérieur; et aussi que nous devons écarter toute idée de vaccination quand une dose hypervaccinante est déjà en circulation dans le sang. Mais, quoiqu'il soit important de remarquer que, lorsqu'il s'agit de fournir un antigène, les microbes morts peuvent être employés à la place des vivants et *vice versa*, nous ne devons pas oublier que, à part la question d'apport d'antigène, les microbes morts introduits sous forme de vaccin ont un rôle très différent de celui des microbes vivants qui produisent l'infection.

Ces principes sont en réalité très simples. Les microbes morts fournissent notre agent thérapeutique, mais les microbes vivants décident de l'issue de la maladie; la réaction vaccinnante dépendra des doses de vaccin administrées, mais l'efficacité de cette réaction dépendra, dans les procédés prophylactiques, autant que dans les procédés thérapeutiques, du nombre de microbes vivants auxquels on aura eu affaire.

Nous voyons que, précisément, il se passe la même chose *in vitro*. Il est essentiel de régler la quantité totale d'antigène qui entre dans l'opération, mais il est encore plus important de maintenir entre des limites déterminées le nombre des microbes que nous ensemençons dans la dose d'épreuve (*test dose*).

Il reste encore trois autres points à examiner au sujet des expériences dans lesquelles des microbes vivants et morts sont introduits dans le sang, et on doit se les rappeler à propos de chaque expérience que j'ai citée ou que je vais citer.

Le premier point est que, dans ce que nous appelons *culture vivante*, il y a toujours une proportion variable et inconnue de *microbes morts*. Le second est que, au point de vue de la production des effets physiologiques, nous ne devons pas ranger dans la même catégorie d'efficacité toutes les sortes de microbes morts ou, suivant le cas, toutes les sortes de microbes vivants.

Prenons le cas de microbes morts : certains, tels que les bacilles de la fièvre typhoïde, qui ont été tués à 56°, se



dissolvent rapidement dans le sérum et, dans une plus faible proportion, dans les milieux aqueux. D'autres, comme les bacilles typhiques qui ont été chauffés vers 72°, sont comparativement insolubles et fournissent un vaccin qui est non seulement inférieur en quantité, mais aussi probablement moins efficace. Et le troisième point dont on devra se souvenir est que, dans les opérations de vaccination, nous n'opérons pas comme dans les réactions chimiques ordinaires avec des réactifs qui sont complètement dissous, mais avec des substances qui, quelquefois, sont peu solubles, ou d'autres fois ne se dissolvent que très lentement. Conformément à ce qui précède, une dose de vaccin donnera quelquefois un résultat nul et d'autres fois, surtout s'il est inoculé dans la veine, d'abord une phase positive et ensuite une phase négative.

Je désire maintenant montrer les résultats de quelques expériences dans lesquelles des microbes vivants et morts ont été inoculés dans du sang défibriné *in vitro*.

### Expériences montrant qu'on obtient un effet hémobactéricide en vaccinant le sang *in vitro*.

Nous nous occuperons d'abord des résultats de deux expériences pratiquées sur mon propre sang.

*Résultat obtenu en ensemençant dans le sang des microbes morts ou des microbes vivants.* — Ici, ces deux genres de microbes ont été ensemençés simultanément dans 25 millimètres cubes de sang et le sang ensemençé a été ensuite introduit dans de fins tubes capillaires et mis à l'étuve (expérience I).

*Détail des numérations bactériennes sur lesquelles sont basés les chiffres de ce tableau.* — La suspension de staphylocoques (1), qui a fourni la dose type, a été ensuite diluée

(1) On obtient un lavis d'une suspension bactérienne en prenant d'un milieu de culture un volume quelconque (25 millimètres cubes de sérum), en l'aspirant dans une pipette capillaire en aspirant après une petite bulle d'air, et de suite un volume de la suspension bactérienne. En chassant ce volume il reste sur les parois du tube capillaire un lavis étalé.

Consulter WRIGHT, *Technique of the Teat and Capillary Tube*, 2<sup>e</sup> édition, Constable, Londres, 1921.

## EXPÉRIENCE I.

DOSE TYPE	DOSE VACCINALE	TOTAL de l'ensemencement	RÉSULTAT positif ou négatif après culture
Suspension de staphylocoques vivants.	Solution multiple ou sous-multiple d'une suspension 8 fois plus concentrée et stérilisée de staphylocoques.		
Environ 2.000 staphylocoques vivants par centimètre cube.	32.000 staphylocoques morts par centimètre cube.	34.000	+
Id.	Id.	34.000	+
Id.	16.000	18.000	+
Id.	16.000	18.000	+
Id.	8.000	10.000	+
Id.	8.000	10.000	+
Id.	5.000	7.000	0
Id.	5.000	7.000	0
Id.	4.000	6.000	+
Id.	4.000	6.000	+
Id.	2.000	4.000	+
Id.	2.000	4.000	+
Id.	0	2.000	+
Id.	0	2.000	+
Id.	0	2.000	+

dix fois, puis un lavis ou sous-multiple d'un lavis a été ensemencé et cultivé dans 25 millimètres cubes de mon sérum.

1 volume de sérum contenant :

1 lavis de la suspension bactérienne, diluée 1 p. 10, donne 5 colonies.

1	—	—	—	—	5	—
1/2	—	—	—	—	3	—
1/4	—	—	—	—	1	—

Il y avait ainsi, dans un lavis de la culture employée pour cette numération, 5 microbes, ce qui fait 50 microbes pour la dose type, et comme on utilisait 25 millimètres cubes de sang, ceci correspondait à un ensemencement de 2.000 ( $50 \times 40$ ) staphylocoques par centimètre cube.

## EXPÉRIENCE II (technique exactement semblable).

DOSE TYPE par centimètre cube	DOSE VACCINANTE par centimètre cube	TOTAL de l'ensemencement par centimètre cube	NOMBRE de survivants par centimètre cube (moyen des 2 tubes)
1.200 staphylocoques vivants par centimètre cube.	12.000 staphylocoques morts par centimètre cube.	13.200	363
Id.	Id.	13.200	
Id.	6.000	7.200	
Id.	6.000	7.200	48
Id.	4.000	5.200	
Id.	4.000	5.200	
Id.	3.000	4.200	180
Id.	3.000	4.200	
Id.	0	1.200	
Id.	0	1.200	200
Id.	0	1.200	

Le tableau ci-dessous montre un résultat remarquable obtenu avec un sang qui possédait à l'origine un pouvoir bactéricide intense.

EXPÉRIENCE III. — Ici le vaccin composé de staphylocoques morts était ensemencé *in vitro* dans du sang défibriné. Le sang vacciné était gardé à la température du laboratoire et, après trois quarts d'heure, des dilutions de staphylocoques vivants étaient ensemencées, le volume de la suspension de staphylocoques étant toujours de 2 mm. c. 5 pour 50 millimètres cubes de sang.

Après ensemencement, le sang était placé dans des cellules-lames et mis à l'étuve (tableau III).

Détail de la numération microbienne sur laquelle sont basés les chiffres du tableau :

Ici, dans chaque cas, 2 mm. c. 5 des dilutions au 32°, 64° et 128° d'une suspension de microbes, employée pour l'ensemencement le plus fort, étaient mélangés à 50 millimètres cubes de sérum et on pratiquait l'endoculture. Le nombre de colonies développées dans le sérum ensemencé avec les dilutions au 1/32, 1/64 et 1/128 était respectivement (cette numération ayant été pratiquée en double pour chaque cas) 31 et 30, 18 et 19, 6 et 7. En prenant les premiers chiffres,



## EXPÉRIENCE III.

VARIÉTÉ DE SANG dans laquelle des microbes vivants étaient ensemencés	NOMBRE DE MICROBES POUR 100 qui se développent après ensemencement de staphylocoques vivants par centimètre cube							
	20.000	10.000	5 000	2.500	1.250	600	300	150
Sang non vacciné .	7,4	5,2	6	5	16	6,6	0	0
Sang vacciné avec 12.000 staphyl. par cent. cube. . . .	1,5	1,4	0,8	1,6	1,6	3,2	0	0
Sang vacciné avec 6.000 staph. morts par cent. cube. . .	0,6	0,4	0,8	0,0	1,6	3,3	7	0
Sang vacciné avec 3.000 staph. morts par cent. cube. . .	6,1	1,6	5,2	8	1,6	3,2	0	0
Sang vacciné avec 1.500 staph. morts par cent. cube. . .	5	5,4	5,6	6	1,6	3,2	0	0

ceux-ci représentent un ensemencement approximatif de 600 staphylocoques vivants par centimètre cube dans la colonne 6 du tableau. Nous remarquons ici trois points particuliers :

1° Tous les sangs vaccinés tuent, sur toute la ligne, plus de microbes que les sangs non vaccinés, les meilleurs résultats dans ce cas particulier étant obtenus avec un sang vacciné à l'aide de 6.000 staphylocoques morts. Dans le cas où l'on avait ensemencé 20.000 staphylocoques vivants, ce sang tuait par centimètre cube 1.360 staphylocoques de plus que le sang non vacciné ; et il tuait, sans en laisser en excès, 2.500 staphylocoques, alors que l'autre en tuait 300 dans les mêmes conditions.

2° Le deuxième point présente une importance théorique générale. Quand on emploie des nombres comparables de microbes provenant, dans l'un des cas, d'une culture vivante, et dans l'autre cas, en partie d'une culture vivante et en partie d'une culture stérilisée, on obtient toujours de meilleurs résultats avec le mélange.

Ainsi, par exemple, nous avons dans la colonne 1, avec un

ensemencement total de 20.000 staphylocoques vivants, un pourcentage de 7,4 de survivants, et dans la colonne 2, avec un ensemencement total de 22.000 staphylocoques dont 12.000 morts et 10.000 vivants, un pourcentage de survivants de 1,4; de plus, nous avons dans la colonne 2, avec un ensemencement total de 10.000 staphylocoques, un pourcentage de survivants de 5,2, et dans la colonne 3, avec un ensemencement total de 11.000 staphylocoques dont 6.000 morts et 5.000 vivants, un pourcentage de survivants de 0,8; il semble donc (mais on doit être prudent dans ses conclusions, car il n'y a pas de culture contenant exclusivement des microbes vivants) que les microbes morts sont, à nombre égal, plus efficaces que les vivants, et que des vaccins composés de cultures stérilisées doivent être préférés aux vaccins vivants, non seulement parce qu'ils ne font pas courir de risque d'infection, mais aussi parce qu'ils sont d'une qualité supérieure.

3° Le troisième point est aussi d'un intérêt fondamental, et c'est un point que nous avons déjà considéré. Lorsque, dans nos expériences, nous introduisons des microbes dans le sang total, ou dans un sérum, ou dans un pus qui contient des leucocytes, ou, comme dans la technique opsonique, dans un mélange artificiel de leucocytes lavés et de sérum, les microbes que nous ensemençons, bien que nous les ayons ensemencés seulement dans un but de dosage, provoquent (suivant leur nombre) une réponse secondaire épiphylactique qui produira une augmentation du pouvoir hémobactéricide pareille à celle que l'on obtient lorsque des infections légères se produisent après des injections prophylactiques.

Ou encore, les microbes que nous ensemençons dans un but de titrage peuvent, comme dans le cas d'une infection plus grave survenant après une inoculation prophylactique, vaincre la résistance du sang et absorber le total ou même plus que le total du pouvoir hémobactéricide produit par l'opération initiale de vaccination. A cause de ces effets surajoutés, il devient très difficile de préciser l'effet de l'opération vaccinante primitive. Il semble que ce qu'on peut faire de mieux, dans ce but de délimitation, est d'éliminer les leucocytes avant de pratiquer notre réaction de titrage et de nous contenter de mesurer le pouvoir opsonique et bactéricide du sérum. Il nous semble

avantageux de suspendre les considérations sur les effets produits par l'inoculation intraveineuse de vaccins sur le pouvoir hémobactéricide jusqu'à ce que nous ayons développé un peu plus avant l'exposé de ce mémoire.

### Expériences d'ensemencement; endo et exoculture (implanting et explanting).

Jusqu'à présent, nous avons étudié les résultats obtenus en ensemençant des microbes vivants séparément, ou associés à des microbes morts, dans le sang, et en pratiquant dans celui-ci même la culture (*inculturing*). Cette méthode nous indique le pouvoir destructif des leucocytes et du liquide du sang, agissant ensemble. Mais bien que nous indiquant le nombre de microbes qui sont tués, elle ne nous renseigne nullement sur la vitesse de cette destruction, pas plus que sur la nature de ce processus de destruction. De plus, la méthode d'endoculture est d'une application pratique et d'une utilité limitée. Quand on arrive à avoir 60 colonies développées dans 50 cent. cubes de sang, il devient difficile de les compter d'une façon précise.

La méthode d'ensemencement en exoculture permet de remédier à ces difficultés. Disons tout d'abord, pour nous tranquilliser, que les résultats généraux obtenus par cette méthode sont comparables à ceux obtenus par la méthode d'endoculture. Et puisque nous sommes particulièrement intéressés ici à vérifier la proposition que la réponse épiphyllactique peut être provoquée dans le sang *in vitro*, et se produit seulement quand nous inoculons une dose suffisamment forte, il convient d'étudier d'abord mon propre sang, que son faible pouvoir phyllactique rend particulièrement propre à servir à ces expériences de réponse épiphyllactique.

### Expériences d'ensemencement et d'exoculture (explanting).

Ici, des ensemencements de 2 mm. c. 5 de dilutions graduées d'une suspension de staphylocoques vivants furent pratiqués dans 50 millimètres cubes de sang défibriné de A. E. W. Ensuite des échantillons de chaque ensemencement étaient



prélevés, dilués d'abord 25 fois, puis versés à la surface de plaques de gélose. Les premiers échantillons étaient explantés (*explanting*) de suite après que le mélange intime, sang et microbes, venait d'être pratiqué; les autres échantillons étaient explantés après de plus longs intervalles. Les sangsensemencés étaient, dans chaque cas, laissés à la température ordinaire et non à l'étuve (expériences I, II et III).

## EXPÉRIENCE I.

ÉCHAN- TILLON de sang — Numéro	NOMBRE de staphy- locoques vivants ensemencés par cent. cube de sang	NOMBRE de staphy- locoques vivants ensemencés our 2 millim. cube de sang	NOMBRE de colonies développées à partir de ce volume explanté après intervalle déterminé de :				NOMBRE de staphy- locoques ensemencés dans les échantillons	NOMBRE de colonies développées à partir de ces échantillons
			0'	30'	60'	120'		
1. . . .	16.500	33	26	20	27	23	132	96
2. . . .	11.000	22	12	6	11	—	66	20
3. . . .	5.500	11	8	2	3	5	44	18
4. . . .	2.750	5,5	2	1	1	1	22	5
5. . . .	920	1,9	1	2	2	1,5	7,6	6,5
6. . . .	460	0,9	1	0,5	0	1,5	3,6	3
7. . . .	230	0,45	0	0	0	0,5	0,45	0,5

Nous voyons que les conclusions obtenues par la méthode d'endoculture sont toutes confirmées ici; nous arrivons de nouveau au résultat que le type particulier de sang dont il s'agit ici n'exerce pas d'effet bactéricide lorsqu'onensemence seulement un petit nombre de staphylocoques (1.000 par centimètre cube ou moins) et qu'il exerce un effet réellement appréciable lorsqu'on aensemencé un plus grand nombre de staphylocoques.

Dans les trois séries d'expériences relatées ici, avec lesensemencements faibles il n'y a eu aucune action bactéri-cide, et avec desensemencements plus importants nous obtenons une proportion de microbes tués de 60 p. 100.

## EXPÉRIENCE II (On a employé la même technique).

ÉCHANTILLON de sang — Numéro	NOMBRE de staphylocoques vivants ensemencés par cent. cube de sang	EFFET BACTÉRICIDE dans l'échantillon explanté immédiatement	EFFET BACTÉRICIDE dans les 4 échantillons explantés dans les trois heures
1 . . . . .	12.000	22 réduites à 8 col.	90 réduites à 15 col.
2 . . . . .	8.000	15 Id. 10 col.	60 Id. 15 col.
3 . . . . .	4.000	7,5 Id. 0 col.	22,5 Id. 5 col.
4 . . . . .	2 000	3,75 devenues 5 col.	11,5 Id. 7 col. 184 Id. 42 col.
5 . . . . .	800	2,25 Id. 2 col.	7,75 Id. 8 col.
6 . . . . .	546	1,5 Id. 2 col.	4,5 Id. 5 col.
7 . . . . .	270	0,75 Id. 0 col.	2,25 Id. 3 col. 14,5 devenues 16 col.

## EXPÉRIENCE III (Toujours la même technique).

ÉCHANTILLON de sang — Numéro	NOMBRE de staphylocoques vivants ensemencés par cent. cube de sang	EFFET BACTÉRICIDE dans l'échantillon explanté immédiatement	EFFET BACTÉRICIDE dans les 4 échantillons explantés dans les trois heures
1 . . . . .	5.400	10,8 réduites à 5 col.	43 réduites à 18 col.
2 . . . . .	1.800	3,6 Id. 1 col.	14,5 Id. 7 col. 57,5 Id. 25 col.
3 . . . . .	360	0,75 devenues 1 col.	3 Id. 3 col.
4 . . . . .	170	0,25 Id. 0 col.	1 Id. 0 col. 4 devenues 3 col.

EXPÉRIENCE IV. — 7 mm. c. 5 de la culture de staphylocoque précédente sont ensemencés dans 300 millimètres cubes de sang défibriné de A. E. W. et, immédiatement après, un échantillon de 30 millimètres cubes est répandu sur une plaque

de gélose. Ceci fait, un autre volume de 7 mm. c. 5 de la suspension de staphylocoques est ensemencé et immédiatement un autre échantillon de 30 millimètres cubes est explanté. Cette série d'opérations est renouvelée tout le long de l'expérience.

## EXPÉRIENCE IV.

NOMBRE de staphylocoques ensemencés par centimètre cube de sang	NOMBRE ensemencé dans les 30 millim. cubes de sang employé pour l'exoculture	NOMBRE de colonies développées à partir de 30 millim. cubes explantés	POURCENTAGE des survivants
400	12	11	99
840	25	10	40
1.310	40	—	—
1.850	56	18	32
2.450	75	26	34
3.125	100	17	17
4.625	140	48	29
6.300	190	69	31
8.150	245	108	44
10.250	310	148	48

Les chiffres d'ensemencements ont été obtenus en faisant la numération de la suspension de staphylocoques dans 50 millimètres cubes de sérum, qui donnaient 44 colonies pour un ensemencement de 2 mm. c. 5, 140 colonies pour 7 mm. c. 5, et 135 colonies pour 10 millimètres cubes : ce qui fait un total de 319 colonies pour les 20 millimètres cubes de la suspension ensemencée. Cela représente 16 staphylocoques par millimètre cube ou 12 pour 0 mm. c. 75 qui est le volume de suspension bactérienne contenu dans les 30 millimètres cubes de sang employé pour la première exoculture.

De plus, ces expériences montrent, et c'est là la nouvelle acquisition qu'elles permettent de faire, que dans la totalité des microbes tués par le sang la plus grande proportion (dans le cas qui nous occupe, les deux tiers) sont tués instantanément.

A ce sujet, il importe de préciser les points suivants :

1° Une action bactéricide instantanée est obtenue pratiquement d'une façon invariable. Dans les cas où elle manque, cela



tient probablement à ce que l'antigène ne se trouvait pas à l'état dissous.

2° Le fait que les microbes peuvent être tués instantanément quand on provoque une réponse épiphylactique a, comme nous le voyons, une très grande importance pratique au point de vue du traitement des maladies microbiennes.

3° Le fait que des microbes sont tués instantanément, et ceci à la température ordinaire, apporte une vive lumière sur le mode de destruction bactérienne et sur la nature de la réponse épiphylactique. Si nous nous étions contentés ici de la méthode d'endoculture, nous aurions peut-être supposé que l'ensemencement d'une quantité suffisante de microbes avait contribué à une activation du mécanisme de la phagocytose. Mais puisque nous voyons, par ces expériences, que les microbes sont tués instantanément à une température où la phagocytose commence seulement à se produire après un intervalle très appréciable, nous sommes forcés de conclure que l'effet bactéricide instantané ne peut pas être dû à la phagocytose. Nous devons donc l'attribuer à une action bactéricide du sérum, acquise par le moyen de la vaccination.

L'hypothèse que l'action bactéricide instantanée dans le sang est due au sérum fournit un nouveau point de repère qui va nous permettre d'édifier une nouvelle série de généralisations.

Du fait que le sang peut tuer les microbes instantanément, nous pouvons déduire qu'un sérum bactéricide peut également être capable de tuer les microbes instantanément. De plus, puisque, comme nous allons voir, le sérum reçoit, du fait de la vaccination une augmentation du pouvoir bactéricide, et puisque nous remarquons que, dans le cas où des leucocytes débarrassés de sérum par lavage sont déposés sur de la gélose ensemencée avec des staphylocoques ou des streptocoques, ces derniers sont tués hors des cellules et par une action chimique (1), nous sommes absolument obligés de conclure que les substances bactéricides trouvées dans les sangs vaccinés sont dérivées des leucocytes et que les leucocytes peuvent,

(1) Cette expérience probante est décrite et illustrée : Wright. *Technique of the Teat and Capillary a glass Tube*. Constable, London, p. 279-285.

sous l'influence d'une dose vaccinante de microbes, dégager instantanément dans les liquides sanguins environnants leurs substances bactéricides.

Nous verrons dans la suite que toutes ces hypothèses sont confirmées par l'expérience actuelle, mais ici un autre résultat doit entrer le premier en ligne de compte.

J'ai déjà montré ailleurs (1) que lorsqu'une réaction épiphylactique est provoquée par adjonction de vaccin au sang, le sérum devient bactéricide ou même, suivant le cas, voit son pouvoir bactéricide augmenté non seulement pour l'espèce de microbe qui a fourni le vaccin, mais encore pour beaucoup de microbes différents. Ceci n'était pas à prévoir à première vue. Il semble donc que toutes les substances antibactériennes produites dans le sang sont polytropiques et nous verrons que ceci s'applique aussi aux substances opsoniques qui y sont élaborées.

Il n'est pas nécessaire d'insister beaucoup au point de vue général sur le fait que les substances antibactériennes dont il est question ici sont polytropiques. Des notions établies depuis longtemps nous préviennent contre cette idée que la vaccination confère une protection non spécifique, mais néanmoins c'est une idée qui s'impose en réfléchissant. En premier lieu, dans le cas où le sang tue les microbes instantanément, il n'y a pas le temps nécessaire pour l'élaboration d'éléments antibactériens et, de plus, il est encore plus difficile de supposer que les leucocytes auraient emmagasiné dans leur protoplasma des substances bactéricides monotropiques et des opsonines spéciales pour chaque sorte de microbes, que de supposer que les leucocytes possèdent une provision d'éléments antibactériens polytropiques capables de déployer leur action contre tout microbe envahisseur sans distinction d'espèce.

Et, à ce propos, nous pouvons ajouter : Quand nous nous sommes représenté que des substances antibactériennes non spécifiques peuvent être mises en liberté par les leucocytes sous l'influence d'un antigène quelconque, il n'y a pas loin à supposer qu'une action vaccinante efficace peut être apportée aux leucocytes par des agents chimiques autres que les antigènes microbiens.

(1) *C. R. Acad. des Sciences*, 1919.

Certains faits cliniques et plusieurs faits expérimentaux s'harmonisent très bien avec une telle conception. C'est ainsi que l'éméline, bien que n'ayant pas d'effet directement nocif pour l'*amœba histolytica*, peut débarrasser l'intestin de cette infection. De même, dans le cas de syphilis compliquée de graves infections streptococciques et staphylococciques, le salvarsan peut débarrasser très vite l'organisme de ces dernières. C'est un fait qui peut être rapproché de l'observation de S. R. Douglas et Colebrook qui établit qu'après des injections de salvarsan et de néo-salvarsan, le sang devient, pendant quelques heures, bactéricide pour le streptocoque et le staphylocoque. On peut aussi ajouter à cela l'observation de Walbum qui montre que l'action de l'antitoxine et des agglutinines diphtériques sur le *bacillus coli* peut être augmentée d'une façon très appréciable par l'emploi de chlorure de manganèse et d'autres sels métalliques.

Nous sommes maintenant à même d'examiner plus en détail la nature de la réaction épiphylactique. Certaines expériences explicatives très simples nous servent de directives. Les expériences en question consistent à tuer les leucocytes, tantôt avant, tantôt après avoirensemencé les microbes dans le sang, et à observer dans quelle mesure la mise à mort des leucocytes influence la destruction des microbes. Voici une expérience pour illustrer ce que nous venons de dire. Ici, le sang était chauffé un peu au-dessus de 46°-48° avant d'ensemencer les microbes; cette température permet de tuer les leucocytes sans modifier le sérum.

EXPÉRIENCE V. — Des ensemencements gradués de staphylocoques ont été pratiqués par la méthode des lavis successifs (*Wash and afterwash*) dans des séries de volumes de sang aspirés l'un après l'autre dans de longs tubes capillaires.

Le signe + employé ici indique que les colonies étaient trop rassemblées pour en permettre une numération précise.

Cette expérience typique montre clairement que le fait de tuer les leucocytes provoque un grand changement; en chauffant le sang, on abolit complètement ou presque complètement son pouvoir bactéricide pour le staphylocoque et le streptocoque.



## EXPÉRIENCE V.

	NOMBRE DE COLONIES développées dans volumes successifs															Dans les 12 der- niers volumes
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
SANG non chauffé	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SANG chauffé à 48°	+	+	+	3	3	2	1	1	0	1	0	1	1	0	0	13
	+	+	+	3	5	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	13

On l'abolit de deux façons :

1° L'action phagocytaire est arrêtée (dans le cas particulier de mon propre sang, ceci n'a pas une grande influence) et de plus (et ceci est beaucoup plus important dans tous les sangs);

2° Le pouvoir de réaction épiphylactique est aussi aboli; il ne reste plus dans le sang que le pouvoir microbicide tel qu'il existait à l'origine dans son sérum.

En ce qui concerne les expériences dans lesquelles le sang, après que des microbes y ont étéensemencés, est chauffé suffisamment pour tuer les leucocytes, mais pas suffisamment pour modifier le sérum ou attaquer les microbesensemencés, ces expériences, comme on peut s'y attendre, fournissent des résultats absolument concordants avec ceux obtenus dans les expériences d'ensemencement et d'exoculture (*implanting and explanting*).

Lorsque nous ensemençons un sang et qu'immédiatement nous le portons à la température de 48°, nous obtenons beaucoup moins de développement de colonies que dans un sang qui a été chauffé auparavant. Un plus grand nombre de microbes sont donc tués lorsque nous faisons agir la chaleur après l'espace d'environ une minute; et lorsque le sangensemencé est laissé au repos environ une heure avant de le chauffer, les résultats donnés par la culture sont pratiquement les mêmes que dans un sang qui n'est pas chauffé.

Expériences qui montrent que, lorsque la réponse épiphylactique est provoquée dans le sang, le pouvoir bactéricide du sérum est augmenté.

Ces expériences, de même que celles qui précèdent, dans lesquelles le sang est chauffé, soit avant, soit après l'ensemencement des microbes, sont — il faut s'en souvenir — seulement des expériences de prélude. Elles ne prouvent pas d'une façon absolument certaine que c'est par l'action des leucocytes ou presque exclusivement par leur action que les staphylocoques et les streptocoques sont tués dans le sang. Et, de plus, ces expériences de chauffage (et la même chose s'applique naturellement à toutes les expériences faites avec le sang total) ne nous apprennent que par le moyen d'une conclusion indirecte la manière dont les microbes sont tués. Pour arriver à des connaissances définitives nous devons expérimenter avec chacun des éléments du sang séparément.

Nous avons avantage à commencer par nous convaincre que la réponse épiphylactique marche la main dans la main avec le développement d'un pouvoir bactéricide augmenté dans le sérum. Puisque j'ai déjà montré ailleurs (1) que ceci est vrai pour le sang humain vacciné *in vitro*, je vais citer ici des expériences faites avec une autre méthode, expériences dans lesquelles des vaccins composés de microbes morts sont inoculés dans la veine chez les animaux et l'homme; et des expériences dans lesquelles les sérums sont titrés immédiatement, puis à différents intervalles après l'inoculation.

### Expériences sur les lapins.

Un vaccin composé de microbes morts a été injecté dans la veine; des échantillons de sang furent prélevés avant et à différents intervalles après l'inoculation, et ensuite des staphylocoques vivants furent introduits par la méthode des lavis (2) dans une série de volumes de 10 millimètres cubes de chaque sérum

(1) *C. R. Acad. des Sciences*, 1919.

(2) Voir WRIGHT, *Technique of the Teat and Capillary Tube*. Constable, London, p. 80-81.

aspirés dans un tube capillaire. Les chiffres du tableau indiquent le nombre de staphylocoques qui poussent sous forme de colonies dans la série de chaque volume multipliée par un facteur donnant le nombre de microbes par cent. cube de sérum.

	MICROBES PAR CENTIMÈTRE CUBE qui poussent sous forme de colonies dans les sérums ou les sang prélevés avant et après l'injection de vaccin							NOMBRE ADDITIONNEL de microbes tués par le sérum après l'injection de vaccin  par cent. cube
	AVANT	APRÈS						
		1 min.	15 m.	30 m.	1 h.	3 h.	6 h.	
Lapin 1 inoculé avec 20.000 staphyl. par cent. cube de sang.	5.000	400	»	400	»	0	0	Au moins 5.000
Lapin 2 inoculé avec 20.000 staphyl. par cent. cube de sang.	2.200	1.200	200	»	»	400	0	Au moins 2.200
Lapin 3 inoculé avec 14.000 streptocoques pyogènes par cent. cube de sang. . . .	5.000	500	0	»	0	»	0	Au moins 5.000

### Expériences sur l'homme.

EXPÉRIENCE I. — 250.000 streptocoques morts (c'est-à-dire environ 40 streptocoques par cent. cube de sang) sont injectés dans la veine de A. E. W.; des échantillons de sang ont été prélevés avant et après l'injection et le pouvoir bactéricide des sérums fut dosé en ensemençant par la méthode de lavis des doses graduées de staphylocoques vivants dans une série de volumes égaux de sérum aspirés dans un long tube capillaire.

EXPÉRIENCE II. — Une dose de vaccin streptococcique équivalant à environ 15 streptocoques par cent. cube de sang circulant a été inoculée dans la veine chez un malade qui souffrait d'une infection streptococcique. Des échantillons de sang furent prélevés immédiatement avant et après, ainsi que vingt-quatre heures après l'injection. Les sérums furent titrés en les ense-



## EXPÉRIENCE I.

	RÉSULTAT POSITIF OU NÉGATIF de la culture des échantillons successifs du sérum															NOMBRE des échan- tillons qui ont donné des colonies		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
Sérumimmédia- tement avant l'injection.	a)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	?	?	+	+	+	13	14
	b)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	15	
Sérum 2 minu- tes après l'in- jection.	a)	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	7	8
	b)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	9	
Sérum 15 minu- tes après l'in- jection.	a)	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6 1/2
	b)	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	7	

mençant de staphylocoques vivants par la méthode de lavis, et dans chaque cas en opérant sur une série d'échantillons de chaque sérum, un de 20 millimètres cubes et deux de 10 millimètres cubes.

## EXPÉRIENCE II.

	NOMBRE DES COLONIES qui se développent dans les échantillons				Dans les 3 échantillons
		1	2	3	
Sérum du sang avant l'inoculation.	a)	11	1	1	13
	b)	13	1	0	14
Sérum du sang immé- diatement après l'ino- culation.	a)	8	1	0	9
	b)	5	0	0	5
Sérum après 24 heu- res.	a)	15	0	0	15
	b)	13	0	0	13

La différence de 6,5 colonies dans 40 millimètres cubes de sérum correspond à une mise à mort de 162 staphylocoques de plus par cent. cube de sérum.

EXPÉRIENCE III. — Une inoculation intraveineuse d'environ 15 streptocoques par cent. cube de sang circulant, chez un malade souffrant d'un rhume intense, suivie par une injection intraveineuse de streptocoques (représentant 10 streptocoques par cent. cube de sang circulant) vingt-quatre heures après que le rhume semblait nettement amélioré.

23 août 1922. Les sérums furent titrés en ensemençant 5 millimètres cubes d'une suspension de staphylocoques dans des échantillons de 100 millimètres cubes de sérum.

Le sérum avant l'inoculation donnait ainsi 76 colonies de staphylocoques; immédiatement après l'inoculation il en donnait 63.

La différence des 13 colonies pour 100 millimètres cubes correspond à une destruction de plus de 130 staphylocoques par cent. cube de sérum.

24 août 1922. Les sérums furent titrés ici de la même façon, mais en se servant d'une émulsion de staphylocoques différents.

Le sérum, immédiatement avant l'inoculation, fournissait ainsi 40 colonies, immédiatement après 30 colonies, et vingt-quatre heures après, il fournissait 40 colonies.

La différence de 10 colonies pour 100 millimètres cubes correspond à une mise à mort de plus de 100 staphylocoques par cent. cube.

EXPÉRIENCE IV. — *Inoculation intraveineuse de vaccin streptococcique chez un homme normal.* — 10 mai 1922. 500.000 streptocoques morts furent inoculés.

Les sérums furent titrés en ensemençant un lavas égal d'une suspension de staphylocoques, dans chaque cas, dans trois échantillons de 20 millimètres cubes de sérum.

Le sérum immédiatement avant l'inoculation fournit 36, 38 et 30 colonies (moyenne 35).

Le sérum après l'inoculation fournit 27, 34 et 29 colonies (moyenne 30).

Le sérum 20 heures après l'inoculation fournit 23, 28 colonies (moyenne 25).

15 mai 1922. 800.000 streptocoques morts ont été inoculés.

Les sérums ont été titrés comme ci-dessus.

Le sérum avant l'inoculation	fournit	13, 16, 9 colonies	(moyenne 13).
Le sérum après	—	7, 8 —	(moyenne 7,5).
Le sérum 24 h. après	—	16, 19 —	(moyenne 17,5).

Le calcul montre que le sang, après la première inoculation, tuait immédiatement 250 staphylocoques de plus par cent. cube, et après vingt heures 500 de plus par cent. cube, et qu'il tuait, immédiatement après la seconde inoculation, 325 microbes de plus par cent. cube.

EXPÉRIENCE V. — Malade M. F..., endocardite à streptocoque, 16 septembre 1922. Le sérum fut prélevé avant et immédiatement après une injection intraveineuse de 500.000 streptocoques morts dans chaque cas; deux échantillons de 50 millimètres cubes chacun de sérum furentensemencés avec 2 mm. c. 5 d'une dilution à 1/3.000 et à 1/6.000 d'une culture de staphylocoques de vingt-quatre heures.

*Sérum avant l'inoculation.* — Ensemencé avec la suspension la plus diluée de staphylocoques, il fournissait 45 et 41 colonies (moyenne 43). Ensemencé avec la suspension plus concentrée, il fournissait 89, 86 colonies (moyenne 87 1/2).

*Sérum immédiatement après l'inoculation.* — Ensemencé avec la suspension de staphylocoques la plus diluée, il fournit 41 et 38 colonies (moyenne 39 1/2). Ensemencé avec la suspension la plus concentrée, il donne 90 et 79 colonies (moyenne 84 1/2).

En reprenant les chiffres pour les deuxensemencements les plus élevés, la différence se traduit par une mise à mort supplémentaire de 3 staphylocoques pour 50 millimètres cubes, soit 60 staphylocoques pour 1 cent. cube de sérum.

EXPÉRIENCE VI. — Malade M..., endocardite à streptocoque, 16 juin 1922. Le sérum fut prélevé avant et immédiatement après une inoculation intraveineuse de 25.000 streptocoques. La technique de titrage employée et la suspension de staphylocoques étaient les mêmes que dans le cas précédent.

*Sérum avant l'inoculation.* — Ensemencé avec la suspension la plus diluée de staphylocoques, il fournit 35, 48 colonies (moyenne 41,5). Ensemencé avec la suspension la plus concentrée, 71 et 83 colonies (moyenne 77).



*Sérum immédiatement après l'inoculation.* — Ensemencé avec la suspension la plus diluée, il fournit 32 et 34 colonies (moyenne 33). Ensemencé avec la suspension la plus concentrée, 65 et 66 colonies (moyenne 65 1/2).

En reprenant de nouveau les chiffres pour les ensemencements les plus forts, ils traduisent une mise à mort augmentée de 11,5 pour 50 millimètres cubes, soit 230 pour 1 cent. cube de sérum.

Quand le sang est inoculé avec une dose de vaccin qui provoque une réaction épiphylactique, le sérum acquiert, en même temps qu'une augmentation du pouvoir bactéricide, une augmentation du pouvoir opsonique; et on obtient, si la capacité phagocytaire ne souffre pas en même temps, un accroissement du pouvoir phagocytaire du sang.

Nous avons déjà attiré l'attention sur le fait que l'inoculation du sang avec le vaccin bactérien augmente le pouvoir opsonique du sérum. Ce développement du pouvoir opsonique se produit à peu près après de la même façon que le développement du pouvoir bactéricide. Il se manifeste aussi bien *in vivo* que *in vitro*, et il commence immédiatement.

#### Expériences dans lesquelles des vaccins sont inoculés dans la veine chez le lapin.

*Lapin n° 1.* — Inoculé avec 10 millions de staphylocoques morts (environ 40.000 par cent. cube de sang). Index opsonique du sérum avant l'inoculation 1, trois minutes après 2,9, une heure après 2,5, et une heure et demie après 3.

*Lapin n° 2.* — Inoculé avec 5 millions de staphylocoques morts (environ 20.000 par cent. cube de sang). Index opsonique du sérum avant l'inoculation 1; trois minutes après 1, 2; deux heures un quart après 1,3.

#### Expériences dans lesquelles des vaccins furent inoculés dans le sang humain *in vitro* et *in vivo*.

EXPÉRIENCE I. — Inoculation intraveineuse d'environ 40 streptocoques par cent. cube dans le sang de A. E. W. Le sang n° 1 fut prélevé immédiatement avant, le sang n° 2 immédiatement après et le sang n° 3 quinze minutes après l'inoculation.

Le pouvoir opsonique du sérum et la capacité phagocytaire des leucocytes des échantillons de sang retirés avant et après vaccination étaient ensuite mesurés : le pouvoir opsonique en prenant un volume de sérum, un volume de leucocytes lavés et un volume de la suspension de staphylocoques; la capacité des leucocytes en comparant le taux des microbes ingérés avec les mêmes sérums.

GLOBULES LAVÉS DU SANG	TAUX des staphylo- coques ingérés	INDEX staphylo- opsonique	TAUX moyen de sta- phylocoques ingérés avec les 3 sérums	CAPACITÉ
N° 1 + sérum 1 + staph.	3,4	1	"	"
N° 2 + sérum 2 + staph.	5,3	1,6	"	1
N° 3 + sérum 3 + staph.	6	1,8	"	"
N° 3 + sérum 1 + staph.	3,5	1	"	"
N° 3 + sérum 2 + staph.	3,9	1,1	4	0,8
N° 3 + sérum 3 + staph.	4,8	1,4	"	"

Je désire attirer l'attention sur trois points :

Le fait que l'index opsonique du sang s'élève instantanément ;

Le fait que la capacité phagocytaire des leucocytes diminue ;

Le fait que le résultat de l'augmentation du pouvoir opsonique, dans ce cas particulier, est masqué par l'effet de la diminution de la capacité leucocytaire. Ceci apparaît quand nous prenons le sérum 3 qui donne, avec les globules du sang 1, un taux de microbes ingérés de 6 et donne, avec les globules du sang 3, un taux de microbes ingérés de 4,8 seulement. Nous verrons ensuite que les changements qui se manifestent dans le sang au cours d'infections à streptocoques suivent ces modalités, excepté seulement au point de vue de l'index opsonique qui augmente habituellement d'une façon beaucoup moins sensible, et de la capacité leucocytaire qui tombe beaucoup plus bas.

EXPÉRIENCE II. — Dans le but de rechercher quelle est la meilleure sorte de vaccin et la quantité optimum à ajouter au sang qui doit servir pour une immuno-transfusion, des doses graduées de vaccin typhique et streptococcique furent ajoutées

*in vitro* au sang défibriné. Les échantillons de sang ensemencés étaient mis à l'étuve pendant une heure et étaient ensuite titrés au point de vue de leur pouvoir phagocytaire, en ajoutant un volume de suspension de streptocoques et deux volumes de sang défibriné.

	INDEX strepto- phago- cytaire		INDEX strepto- phago- cytaire
<i>Sang témoin</i> . . . . .	1	<i>Sang témoin</i> . . . . .	1
Sang vacciné avec 1.000 bacilles typhiques par c. c.	1,7	Sang vacciné avec 20 streptocoques par cent. cube.	3,6
Sang vacciné avec 2.000 bacilles typhiques par c. c.	2	Sang vacciné avec 40 streptocoques par cent. cube.	4
Sang vacciné avec 4.000 bacilles typhiques par c. c.	1,35	Sang vacciné avec 20 streptocoques par cent. cube.	2
Sang vacciné avec 8.000 bacilles typhiques par c. c.	1,75	Sang vacciné avec 200 streptocoques par cent. cube.	2,3

Nous voyons ici : 1° Qu'une notable augmentation du pouvoir strepto-phagocytaire est obtenue avec les deux variétés de vaccin; 2° dans chaque cas, quand une certaine dose est dépassée, le pouvoir phagocytaire commence de nouveau à baisser. D'autres résultats montrent que cet abaissement est probablement dû au fait que l'augmentation du pouvoir opsonique du sérum est contre-balancé par un empoisonnement des leucocytes; 3° dans ce cas particulier, une plus grande augmentation du pouvoir strepto-phagocytaire est obtenue avec le vaccin homologue. Celle-ci peut être due au caractère homogène du vaccin, mais elle peut être due à la chance d'être tombé, dans le cas du streptocoque, sur une dose plus favorable, soit au point de vue de sa propriété de provoquer une réponse opsonique meilleure, soit au point de vue d'une toxicité moindre. Ceci est probablement vrai pour toutes les expériences suivantes.

D'après les six expériences de la série, si nous comparons l'indice phagocytaire avec l'indice opsonique, c'est-à-dire si nous comparons la valeur de la phagocytose obtenue à l'aide des leucocytes du sang vacciné avec celle des leucocytes du



sang non vacciné, nous voyons que l'augmentation du pouvoir opsonique du sérum est, dans une large mesure, masquée par l'intoxication ou l'épuisement des leucocytes.

EXPÉRIENCE III. — Une série d'échantillons de sang défibriné de A. E. W. ont étéensemencés par la méthode de lavis avec des dilutions graduées de vaccin streptococcique. Après une demi-heure d'étuve à 37°, on a titré leur pouvoir phagocytaire avec une suspension de staphylocoques contenant environ 200 millions de staphylocoques par cent. cube.

	INDEX staphylo- phago- cytaire		INDEX staphylo- phago- cytaire
Sang non vacciné . . . . .	1	Sang vacciné avec environ 10.000 staphyloc. par c. c.	1,9
Sang vacciné avec environ 2.500 staphyloc. par c. c.	1,3	Sang vacciné avec environ 40.000 staphyloc. par c. c.	2,1
Sang vacciné avec environ 5.000 staphyloc. par c. c.	1,5	Sang vacciné avec environ 80.000 staphyloc. par c. c.	1,55

EXPÉRIENCE IV. — Le même sang a étéensemencé suivant la même technique avec du vaccin typhique. Le pouvoir phagocytaire a été titré ensuite avec des staphylocoques.

	INDEX staphylo- phago- cytaire		INDEX staphylo- phago- cytaire
Sang non vacciné . . . . .	1	Sang vacciné avec environ 20.000 bacilles typhiques par cent. cube . . . . .	0,6
Sang vacciné avec environ 5.000 bacilles typhiques par cent. cube . . . . .	1,4	Sang vacciné avec environ 40.000 bacilles typhiques par cent. cube . . . . .	0,8
Sang vacciné avec environ 10.000 bacilles typhiques par cent. cube . . . . .	1,45		

EXPÉRIENCE V. — Le même sang, la même technique et le même vaccin typhique ont été employés.

				INDEX staphylo- phagocytaire
Sang non vacciné. . . . .				1
Sang vacciné avec environ	4.500	bacilles typhiques. . . . .		1,65
Id. . . . .	3.000	Id. . . . .		1,7
Id. . . . .	6.000	Id. . . . .		1,0
Id. . . . .	12.000	Id. . . . .		0,85

EXPÉRIENCE VI. — On a employé le même sang, la même technique et le même vaccin typhique.

	INDEX staphylo- phago- cytaire		INDEX staphylo- opso- nique
Sang non vacciné . . . . .	1	Sérum du sang non vacciné. . . . .	1
Sang vacciné avec environ		Sérum du sang vacciné avec	
4.000 bacilles typhiques		environ 4.000 bacilles ty-	
par cent. cube. . . . .	1,25	phiques par cent. cube . . . . .	1,95
Sang vacciné avec environ		Sérum du sang vacciné avec	
8.000 bacilles typhiques		environ 8.000 bacilles ty-	
par cent. cube. . . . .	1,1	phiques par cent. cube . . . . .	1,75

EXPÉRIENCE VII. — Une série d'échantillons de sang défibriné de L. C. ont étéensemencés avec du vaccin typhique, puis centrifugés immédiatement. Le sérum était rapidement décanté, puis titré au point de vue de son pouvoir opsonique par addition de globules lavés et d'une suspension de staphylocoques.

	INDEX staphylo- opso- nique		INDEX staphylo- opso- nique
Sérum de sang non vacciné. . . . .	1	Sérum de sang vacciné avec	
		12.500 bacilles typhiques. . . . .	1,19
Sérum de sang vacciné avec		Sérum de sang vacciné avec	
3.000 bacilles typhiques. . . . .	1,2	25.000 bacilles typhiques. . . . .	1,2
Sérum de sang vacciné avec		Sérum de sang vacciné avec	
6.250 bacilles typhiques. . . . .	1,38	50.000 bacilles typhiques. . . . .	1,0

Nous voyons ici que, *in vitro* comme dans l'expérience I *in vivo*, des substances opsoniques sont libérées immédiatement dans le sang, c'est-à-dire qu'elles sont libérées en moins de temps qu'il n'en faut pour séparer le sérum des globules.

Les leucocytes fournissent les substances opsoniques et bactéricides qui apparaissent dans le sérum lorsqu'une réaction épiphylactique est provoquée dans le sang.

Pour nous en assurer, nous devons d'abord isoler les leucocytes des autres éléments du sang. Puis ajouter des doses graduées de vaccin au sérum ou autre milieu, mettre ce dernier

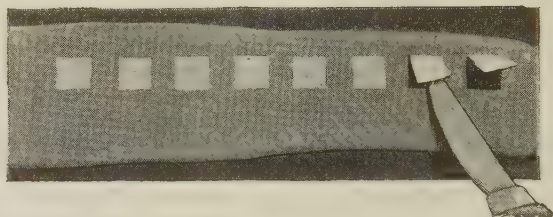


FIGURE 5.

Méthode pour fabriquer des cellules à émigration encadrées de paraffine.

en contact avec les leucocytes, et enfin, titrer son pouvoir opsonique et bactéricide.

Ces dernières conditions sont faciles à satisfaire, et ce sont les premières seules — il s'agit d'obtenir les leucocytes séparés — qui présentent une certaine difficulté de technique. Mais cette difficulté est vaincue par le fait que les leucocytes émigrent d'eux-mêmes du sang. Tout ce qu'ils exigent, c'est une chaleur convenable, un réseau de fibrine pour cheminer au travers et une surface solide pour se rassembler, tel par exemple que le fond d'une « cellule d'émigration » ou les parois d'un tube capillaire. Lorsqu'on emploie les cellules d'émigration comme le montre la figure 5, on les remplit jusqu'au débordement avec le sang recueilli directement du doigt. On les porte ensuite dans une étuve humide pendant une demi-heure à trois quarts d'heure, puis le caillot est ensuite enlevé par lavage avec une solution salée physiologique (1). Lorsqu'on emploie des tubes

(1) WRIGHT. *Technique of the Teat and the Capillary Tube.*

capillaires, le sang du doigt est aspiré dans la tige d'une pipette capillaire; l'extrémité est ensuite scellée, le gros bout est rempli à moitié avec une solution saline physiologique, puis, après incubation, une tétine aplatie est adaptée au gros bout, la pointe du tube est brisée en travers et le caillot est aspiré lentement puis évacué par le gros bout avec la solution saline. Une cellule d'émigration dont le fond est recouvert de leucocytes qui ont émigré peut être appelée une cellule *tapissée* (carpeted) et un tube capillaire recouvert de la même façon peut être appelé *garni* (lined). Les termes *non tapissé* et *non garni* (uncarpeted et unlined) serviront ainsi à dénommer les cellules et les tubes capil-



FIG. 6. — Cellules à émigration garnies de sang.

laires servant de témoins et dont le fond ou les parois seront nettes.

EXPÉRIENCE I. — Cellules d'émigration garnies et non garnies; leucocytes et sérum de A. E. W. On a utilisé des dilutions successives à  $1/700$ ,  $1/300$  et  $1/600$  d'une culture de staphylocoques en bouillon.

De la première dilution 5 millimètres cubes ont étéensemencés dans 100 millimètres cubes de sérum, et de la seconde et de la troisième 2 mm. c. 5 ont étéensemencés dans 50 millimètres cubes de sérum.

Dans chaque cas la moitié du sérumensemencé était introduite dans une cellule tapissée et la moitié dans une cellule non tapissée. Ensuite, après un certain intervalle, chaque portion de sérum était aspirée dans une fine pipette capillaire. Puis ces pipettes étaient mises à l'étuve pendant vingt-quatre heures et les colonies qui s'y développaient étaient dénombrées.

1° Sérum avec l'ensemencement le plus fort (qui représente 2.200 staphylocoques par centimètre cube);



- 25 millim. cubes placés sur une cellule *non tapissée* et réaspirés immédiatement fournissent 52 colonies.
- 25 millim. cubes placés sur une cellule *non tapissée* et réaspirés immédiatement fournissent 56 colonies.
- 25 millim. cubes placés sur une cellule *tapissée* et réaspirés immédiatement fournissent 26 colonies.
- 25 millim. cubes placés sur une cellule *tapissée* et réaspirés après 45 minutes fournissent 15 colonies.

2° Sérum avec l'ensemencement moyen (qui représente 520 staphylocoques par centimètre cube) ;

- 25 millim. cubes placés sur une cellule *non tapissée* et réaspirés après 45 minutes fournissent 19 colonies.
- 25 millim. cubes placés sur une cellule *tapissée* et réaspirés après 45 minutes fournissent 5 colonies.

3° Sérum avec l'ensemencement le plus faible (qui représente 160 staphylocoques par centimètre cube) ;

- 25 millim. cubes placés sur une cellule *non tapissée* et réaspirés après 45 minutes fournissent 4 colonies.
- 25 millim. cubes placés sur une cellule *tapissée* et réaspirés après 45 minutes fournissent 2 colonies.

4° Un volume supplémentaire de sérum avec le même ensemencement que dans l'expérience II.

- 25 millim. cubes placés sur une cellule *non tapissée* et réaspirés après 45 minutes ont fourni 14 colonies.
- 25 millim. cubes placés sur la cellule *tapissée* employée en I et réaspirés après 45 minutes ont fourni 2 colonies.

EXPÉRIENCE II. — Cellules d'émigration tapissées et non tapissées, leucocytes et sérum de I. F. Même technique. Sérum ensemencé avec environ 4.800 staphylocoques par centimètre cube placé sur une cellule non tapissée, pendant cinq secondes, a fourni un nombre de colonies innombrables. Le même sérum ensemencé dans les mêmes conditions (4.800 staphylocoques par centimètre cube), placé sur une cellule tapissée, pendant cinq secondes, a fourni 79 colonies.

Sérum ensemencé avec environ 1.200 staphylocoques par centimètre cube placé sur une cellule non tapissée, pendant cinq secondes, fournit 30 colonies.

Sérum ensemencé avec 1.200 staphylocoques par centimètre

cube placé sur une cellule tapissée, pendant cinq secondes, fournit 14 colonies.

Sérum ensemencé avec environ 520 staphylocoques par centimètre cube placé sur une cellule non tapissée, pendant cinq secondes, fournit 13 colonies.

Sérum ensemencé avec environ 520 staphylocoques par centimètre cube placé sur une cellule tapissée, pendant cinq secondes, fournit 2 colonies.

Il n'est pas possible de penser que la diminution du nombre de microbes dans le sérum qui a été placé sur des cellules tapissées soit due à une proportion de microbes qui se soient fixés sur les leucocytes : ceci est démontré en ensemençant en double dans du bouillon des dilutions progressives de culture de staphylocoques et en explantant directement la première série des échantillons prélevés et en explantant l'autre après séjour sur des cellules tapissées. Voici les résultats donnés par cette expérience.

Des séries d'échantillons de bouillon explanté directement sur gélose ont donné 33, 14, 7, 5 et 4 colonies (en tout 63 colonies).

Une série semblable explantée sur gélose après séjour sur une cellule tapissée donne : 33, 20, 10, 2 et 1 colonies (en tout 66 colonies).

EXPÉRIENCE III. — Cellules d'émigration tapissées et non tapissées, ainsi que pipettes capillaires garnies et non garnies. Leucocytes et échantillons de 30 millimètres cubes de sérum de A. E. W. Dilutions d'une culture de staphylocoques en bouillon au  $1/120$ ,  $1/240$ ,  $1/480$  et  $1/960$ . Des échantillons de 2 mm. c. 5 des deux dernières dilutions ont été ensemencés dans des échantillons de 50 millimètres cubes de bouillon que l'on a ensuite aspirés dans des tubes capillaires très fins. Les deux échantillons ensemencés le plus fortement fournissent 55 et 54 colonies (un échantillon de sérum ensemencé dans les mêmes conditions en fournissait 47).

Les deux échantillons de bouillon ensemencés plus faiblement ont fourni 25 et 27 colonies.

Une série d'échantillons de 30 millimètres cubes de sérum sont ensemencés avec 2 mm. c. 5 des différentes suspensions

de staphylocoques puis ensuite placés chacun pendant trente secondes sur des cellules d'émigration tapissées, aspirés dans des tubes capillaires et mis à l'étuve.

Echan- tillon	Avec la dilution au	Staphy- locoques	Colonies
1	ensemencé 1/120 de staphyl. (c'est-à-dire environ 220)	a fourni	106
2	— 1/240 — — —	110	— 25
3	— 1/480 — — —	55	— 29 } 28
4	— 1/480 — — —	55	— 27 }
5	— 1/960 — — —	28	— 22 }
6	— 1/960 — — —	28	— 16 } 19

Le calcul montre ici qu'avec un ensemencement d'environ 7.500 staphylocoques par centimètre cube nous avons une destruction de 50 p. 100 ; avec ensemencement de 3 600, une destruction de 77 p. 100 ; avec un ensemencement de 1.800, une destruction de 50 p. 100 et avec un ensemencement de 900, une destruction de 27 p. 100.

EXPÉRIENCE SUPPLÉMENTAIRE. — Trois échantillons de 50 millimètres cubes de sérum, ensemencés respectivement avec 2 mm. c. 5 de dilutions au 1/120, 1/240, 1/480 de culture de staphylocoques ont été introduits dans des tubes capillaires garnis.

Tous ces échantillons sont restés stériles.

En prenant les chiffres qui correspondent à l'ensemencement le plus élevé, ceci représente une destruction de 7.200 staphylocoques par centimètre cube par les leucocytes obtenus avec 1 cent. cube de sang.

EXPÉRIENCE IV. — Pipettes garnies et non garnies. Leucocytes de A. E. W. et échantillons de 40 millimètres cubes de son sérum. Dilution d'une culture de staphylocoques en bouillon au 1/150, 1/300, 1/600, 1/1.200, 1/2.400, 1/4.800.

	Colonies
25 mm. c. de la dilution à 1/4.800 en sérum en tubes non garnis donnent	17 et 18
25 mm. c. — 1/2.400 en sérum et tubes non garnis. . . .	27 et 31
en bouillon et tubes non garnis. . . .	31
en sérum et tubes garnis donnent. . . .	15 et 7
25 mm. c. — 1/1.200 en sérum et tube non garni. . . .	60
en sérum et tubes test garnis donnent	19 et 15

			Colonies
			—
25 mm. c. de la dilution à 1/600		en sérum et tube non garni donnent.	120
		en sérum et tube garni. . . . .	21
25 mm. c. — 1/300		en sérum et tube non garni. . . . .	240
		en sérum et tube garni. . . . .	15
25 mm. c. — 1/150		en sérum et tube non garni. . . . .	480
		en sérum et tube garni. . . . .	10

Dans le cas des tubes garnis, les colonies qui ont poussé étaient toujours confinées à l'extrémité la plus étroite du tube capillaire où la garniture de leucocytes était probablement plus faible. En prenant les chiffres qui se rapportent au sérum ensemencé le plus fortement, on constate une destruction de 63 p. 100 avec un ensemencement de 750 staphylocoques par centimètre cube; une destruction de 72 p. 100 avec un ensemencement de 1.500; une destruction de 82,5 p. 100 avec un ensemencement de 3.000 par centimètre cube; une destruction de 94 p. 100 avec un ensemencement de 6.000 par centimètre cube et une destruction de 98 p. 100 avec un ensemencement de 12.000.

EXPÉRIENCE V. — Pipettes capillaires garnies et non garnies, leucocytes et échantillons de 50 millimètres cubes de sérum de A. E. W.

Dilution au 1/30, 1/150, 1/300, 1/600 et 1/2.400 d'une culture de staphylocoques en bouillon.

25 mm. c. de la dilution à 1/2.400		en sérum et tube garni donnent	0 colonies.
		en tubes non garnis. . . 6 et	10 —
25 mm. c. — 1/600		en sérum et tube garni donnent	6 —
		en tube non garni. . . . .	26 —
25 mm. c. — 1/300		en sérum et tube garni donnent	7 —
		en sérum et tube non garni. .	54 —
25 mm. c. — 1/150		en sérum et tube garni donnent	0 —
		en sérum et tube non garni. .	108 —
25 mm. c. — 1/30		en sérum et tube garni donnent	100 —
		en sérum et tube non garni. .	500 —

Ici également les colonies étaient toutes confinées à l'extrémité de la pipette, excepté dans le cas du sérum ensemencé le plus fortement dans lequel elles étaient réparties sur toute la longueur.

Si nous prenons les chiffres tels qu'ils sont, le calcul montre



qu'avec un ensemencement de 10.000 staphylocoques par centimètre cube, 80 p. 100 sont tués ; avec un ensemencement de 2.000, 100 p. 100 ; avec un ensemencement de 1.000, 87 p. 100, et avec un ensemencement de 560, 78 p. 100.

Il résulte de tout ceci que les lois qui gouvernent la réponse épiphyllactique sont les mêmes pour les leucocytes isolés que pour le sang entier. Au lieu d'obtenir avec des ensemencements croissants une réduction du pouvoir bactéricide, comme on l'attendrait dans l'absence d'une réaction épiphyllactique, nous obtenons avec des doses croissantes (jusqu'aux certaines limites) une action bactéricide de plus en plus prononcée.

J'en ai fini maintenant avec ce que j'avais à dire sur les modes d'action des vaccins (*modus operandi*). Nous avons vu que la réaction épiphyllactique est provoquée dans le sang, qu'elle est provoquée aussi bien *in vitro* que *in vivo*, qu'elle est caractérisée par une augmentation subite du pouvoir bactéricide et du pouvoir opsonique du sérum, et que cette augmentation est le résultat d'une libération soudaine par les leucocytes de bactéricidines polytropiques et d'opsonines.

Nous commençons à voir clair dans la façon dont la réponse épiphyllactique peut être obtenue, mais nous sommes loin d'avoir élucidé complètement cette question.

Nous avons vu que, lorsque nous vaccinons un sang normal *in vitro* avec des microbes morts et que nous le titrons avec des microbes vivants, comme aussi lorsque nous titrons le sang d'un malade qui a éprouvé l'action d'antigènes *in vivo*, le résultat va dépendre de la quantité totale d'antigène qui entre en action dans le procédé de vaccination ou d'auto-inoculation d'une part, et le procédé de titrage d'autre part.

En ce qui concerne, d'une part, l'emploi de doses excessives de vaccin et, d'autre part, le développement d'effets apophyllactiques, il y a encore une sérieuse lacune dans notre connaissance. De plus, les effets apophyllactiques produits par un vaccin à staphylocoques sont différents dans leur origine et dans leur constitution de ceux produits par un vaccin typhique ou un vaccin cholérique.

Alors que les vaccins typhique et cholérique exercent leur effet apophylactique lorsqu'ils sont mis en contact avec le sérum, le vaccin à staphylocoques produit seulement l'effet apophylactique lorsqu'il est mis en contact avec le sang total. Cela semble confirmer l'hypothèse que, lorsque le vaccin staphylococcique réduit le pouvoir antibactérien du sang, il n'agit pas par absorption des substances antibactériennes du sérum, mais en provoquant l'excrétion par les leucocytes dans le sérum des substances favorisant la culture.

Bien que l'espace qui m'est réservé ici soit trop restreint, permettez-moi de vous indiquer brièvement quel usage pratique il sera possible de faire des renseignements que nous avons maintenant en notre possession. En premier lieu nous en tiendrons compte dans les préparations des vaccins bactériens.

### Applications pratiques.

#### PRÉPARATION ET CONTROLE DE L'EFFICACITÉ DES VACCINS.

Il est clair que tout ce qui concerne la préparation des vaccins peut être contrôlé par les procédés qui ont été décrits ci-dessus. Par exemple, il sera possible de renoncer à toutes ces enquêtes statistiques que chacun propose mais que personne ne conduit d'une façon effective, et de se rendre compte directement si une souche microbienne particulière donne un meilleur vaccin qu'une autre, si une température de stérilisation particulière ou autre procédé technique donne un meilleur vaccin qu'une autre et s'il est convenable ou non d'employer tel ou tel vaccin particulier pour combattre telle ou telle infection.

De plus, nous avons ici des méthodes qui vont permettre d'établir une comparaison entre différentes sortes de vaccins. C'est pourquoi il sera maintenant possible, pour ceux qui proclament la supériorité d'une préparation vaccinale particulière, de justifier leur assertion; enfin, il sera possible, dans le cas de chaque vaccin, de déterminer la dose qui donnera la réaction optimum.

Ici cependant, nous nous sommes lancés sur une question

hérissée de difficultés et d'ambiguïtés ; je veux seulement les énumérer sans m'y attarder.

Quand nous parlons de doses optimum de vaccin, nous entendons en réalité un mode d'administration particulier et un poids du corps à peu près connu (généralement celui d'un adulte moyen), ainsi qu'une condition particulière de l'organisme, je veux dire la condition ou de ne pas être infecté, ou, suivant le cas, légèrement ou gravement infecté. Ordinairement, quand nous parlons de doses optimum, nous avons en vue, et c'est le point particulier que je veux considérer ici, l'inoculation sous-cutanée considérée comme étant la meilleure voie d'administration.

Ce mode d'administration correspond à l'idée que les substances bactéricides sont formées, en partie au moins, par les tissus au voisinage du point de l'inoculation.

Cependant, grâce à une série de faits récemment mis en lumière, on doit émettre des doutes sur la véracité des principes sur lesquels repose cette dernière hypothèse.

En premier lieu, l'implantation dans les tissus d'un fragment de charpie (lint) stérile (1) produit exactement la même libération locale de substances antibactériennes que l'implantation de charpie imprégnée de vaccins. Il est clair que nous devons expliquer ce fait par l'hypothèse que les substances antibactériennes proviennent dans l'un et l'autre cas des leucocytes émigrés — la libération ayant lieu spontanément. La seconde série de faits, comme nous l'avons indiqué plus haut, établit que des substances bactéricides et opsoniques sont libérées lorsque des vaccins agissent en proportion convenable sur les leucocytes dans le sang.

D'après ce qui précède, les injections hypodermiques apparaissent sous un jour très différent. Leur avantage semble résider dans le fait que le vaccin se trouve (circonstance favorable) déversé lentement et continuellement dans le sang. Mais nous pouvons prévoir que, dans le cas où une trop forte dose de vaccin est administrée et se trouve déversée très rapidement dans le sang, il se produira une formidable phase négative.

(1) WRIGHT. *Lancet*, 29 mars 1919.

Notons en passant ici que ceci arrive fréquemment à la suite d'inoculations de vaccin typhique, lorsque ces inoculations sont immédiatement suivies d'un exercice corporel violent.

De plus, il est évident que, lorsqu'une dose de vaccin relativement faible est inoculée, et que le passage dans le sang se produit très lentement, la quantité d'antigène présente dans le sang ne pourra jamais atteindre la concentration nécessaire pour produire une réponse épiphylactique.

Cette incertitude, qui sera certainement encore accrue si les méthodes d'administration par la voie buccale entraînent en pratique, sera évitée par l'administration intraveineuse d'une dose de vaccin déterminée (standardised) [d'après le nombre de microbes capable de provoquer la meilleure réponse épiphylactique dans 1 cent. cube de sang. Avec ce système de dosage (système que nous avons suivi continuellement ici), il ne reste que de légères difficultés — celle d'apprécier à peu près exactement le volume du sang du malade et celle de la dissolution progressive des microbes dans le sang, dissolution qui amène à l'emploi d'une quantité d'antigène supérieure à celle qu'on devra utiliser. Mais ces difficultés secondaires ne doivent pas nous arrêter longtemps parce que ce qu'on se propose, c'est d'obtenir rapidement la réponse épiphylactique. C'est ceci qui est d'importance dans deux circonstances :

1° Lorsqu'il est urgent d'obtenir chez le malade inoculé une amélioration clinique immédiate; 2° lorsque nous inoculons un donneur et que nous désirons prélever aussitôt que possible son sang dans un but d'immuno-transfusion.

### Extension du domaine des inoculations thérapeutiques.

Nous avons vu au début que la thérapeutique ordinaire par les vaccins s'est montrée inefficace dans les septicémies chroniques à streptocoques, dans beaucoup d'états septicémiques aigus d'origine locale, ainsi que dans la phtisie associée à une température hectique. Nous avons même ajouté que dans la pneumonie, dans la fièvre typhoïde et d'autres infections similaires, la vaccinothérapie n'a donné que des résultats négatifs ou incertains. Par exemple, l'inoculation de pneumocoques



chez des malades indigènes atteints de pneumonie, dans les mines de Johannesburg (1), nous a donné des résultats complètement négatifs.

Nous en sommes réduits, devant ce problème non résolu que représentent ces infections, à nous demander si nous allons être obligés, dans le traitement actuel de ces infections, à revenir, soit à une politique de non-intervention (traitement expectatif), soit à une politique d'intervention purement empirique et ignorante.

La réponse n'est pas douteuse. Pour commencer, et cela constitue un progrès définitif, nous pouvons d'abord entreprendre un titrage de réponse vaccinnante (vaccine response test) sur le sang *in vitro*, qui décidera si le malade est ou n'est pas en état de donner une réaction épiphylactique. Et dans le cas où il est capable de faire une telle réaction, nous pouvons déterminer quelle sera la dose de vaccin injecté dans la veine qui produira la réaction optimum. Dans le cas où il n'est pas capable de donner une réaction immunisante sous l'influence des vaccins, comme il n'y a pas de temps à perdre, nous pouvons alors provoquer une réponse épiphylactique dans le sang d'un individu sain et recourir à ce que j'ai appelé l'immunotransfusion. En plus de ces suggestions thérapeutiques qui se rapportent comme nous le voyons à des cas où la vie et la mort sont déjà dans la balance, deux propositions de moindre importance peuvent être prises en considération : La première se rapporte à l'inoculation empêchante (inhibitory inoculation) dans les périodes d'incubation de toutes les fièvres zymotiques, qu'elles soient d'origine bactérienne ou non. La seconde concerne la possibilité d'arrêter, même lorsqu'elles se déclarent, ces infections peu intenses, mais qui rendent le malade incapable de tout travail, et qui sont groupées sous le nom général de rhumes.

Quand nous considérons qu'une réaction épiphylactique non spécifique peut être provoquée instantanément par l'inoculation intraveineuse de doses appropriées de vaccin, il n'est pas trop hardi de supposer qu'il est possible d'obtenir les résultats dont

(1) WRIGHT, On pharmaco-therapy and preventive inoculation applied to pneumonic in the African native. Constable, London, 1914, p. 83-85.

il est question ci-dessus. Seule une petite fraction du domaine que nous avons rapidement découvert a été explorée jusqu'à présent, si bien qu'il sera peut-être préférable de remettre à une communication ultérieure l'exposé détaillé des succès obtenus ainsi que des insuccès éprouvés. Mais il est indispensable d'expliquer les méthodes de travail employées dans les cas de septicémie et d'infections aiguës et de montrer comment les méthodes d'examen du sang qui ont été décrites ci-dessus doivent être employées dans ces travaux.

### Façon de procéder quand il s'agit de septicémies et d'infections aiguës.

Pour le traitement scientifique de toute infection grave, il faut d'abord les principes qui ont été exposés ci-dessus. Mais cela ne suffit pas. Il est nécessaire de chercher aussi les renseignements spécifiques concernant le malade. Nous devons connaître l'état au point de vue du pouvoir antibactérien de son sang, et sa capacité de réagir aux vaccins par une réaction immunisante. Et de plus, il est nécessaire de déterminer par des moyens directs, en relation avec chaque intervention thérapeutique, si cette intervention a été utile, ou inefficace, ou nuisible.

Les méthodes de laboratoire décrites ci-dessus nous permettent de nous en assurer. Le premier point à considérer est le titrage du pouvoir antibactérien du sang du malade.

On emploiera ici le procédé d'endoculture en cellule-lame ainsi qu'une autre technique que je vais décrire.

### Procédé d'endoculture en cellule-lame pour la mesure du pouvoir hémobactéricide.

Les exemples suivants vont donner une idée de ce que peut nous apprendre le procédé de la cellule-lame :

Dans chaque cas, des dilutions graduées de culture de staphylocoque en bouillon en quantité de 2 c. c. 5 ont étéensemencées dans 50 ou 100 millimètres cubes de sang, puis le nombre des microbesensemencés est dénombré en introduisant

une quantité égale des dernières dilutions microbiennes dans du sérum et en comptant les colonies qui se développent dans ce milieu après incubation dans des tubes capillaires ou des cellules-lames.

OBSERVATION I. — Malade souffrant de septicémie puerpérale streptococcique.

	ÉCHANTILLONS							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de staphylocoques ensemencés dans les . . . . .	1.000	500	250	125	62	31	16	8
Nombre de colonies de staphylocoques développées dans le sang du malade . .	482	88	43	27	Décolorat. bleue diffuse.			
Nombre de colonies de staphylocoques qui se développent dans le sang témoin.	—	36	10	2	0	1	1	0

OBSERVATION II. — Malade souffrant de coryza.

	ÉCHANTILLONS							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de staphylocoques ensemencés dans les . . . . .	1.120	560	280	140	70	35	17	8
Nombre de colonies de staphylocoques qui se développent dans le sang du malade . . . . .	48	31	31	4	4	1	0	0
Nombre de colonies de staphylocoques qui se développent dans le sang témoin.	24	15	10	2	0	4	0	0

OBSERVATION III. — Malade souffrant d'une ostéomyélite aiguë.

	ÉCHANTILLONS							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de staphylocoques ensemencés.	264	137	68	36	18	9	4	2
Nombre de colonies de staphylocoques développées dans le sang du malade . .	42	20	6	4	3	0	2	0
Nombre de colonies de staphylocoques développées dans le sang témoin . . . .	24	15	10	2	0	4	0	0

OBSERVATION IV. — Malade souffrant d'endocardite à streptocoques.

	ÉCHANTILLONS							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de staphylocoques ensemencés.	320	160	80	40	20	10	5	3
Nombre de colonies de staphylocoques développées dans le sang du malade . .	30	7	3	2	2	2	2	2
Nombre de colonies de staphylocoques développées dans le sang témoin . . . .	1	1	0	0	0	0	0	0

Procédé « chiastic » pour mesurer le pouvoir phagocytaire du sang du malade, le pouvoir opsonique de son sérum et la capacité phagocytaire de ses leucocytes.

Comme nous nous en sommes déjà rendu compte, la méthode de la cellule-lame permet la mesure du pouvoir hémobactéricide obtenu par additions successives de microbes



vivants. Elle ne nous renseigne pas sur les différents facteurs dont dépend le pouvoir hémobactéricide, pas plus qu'elle ne nous indique la nature et la cause de la diminution du pouvoir bactéricide d'un sang. Une grande partie de ce qui est ainsi passé sous silence est éclairée par la méthode chiasique qui consiste à préparer du sang défibriné d'un malade ainsi que d'un homme normal, puis à en recueillir de chacun le sérum et les globules lavés, puis enfin à pratiquer, par la méthode que nous avons appelée technique opsonique, une série de quatre mélanges phagocytaires consistant en :

1° Le premier : un volume de sérum du malade, un volume de ses globules lavés et un volume d'une suspension microbienne appropriée;

2° Le second : un volume de sérum normal, un volume de leucocytes normaux lavés et un volume de la même suspension microbienne;

3° Le troisième : un volume de sérum du malade, un volume de globules normaux et un volume de la suspension microbienne;

4° Le quatrième : un volume de sérum normal, un volume des globules du malade et un volume de la suspension microbienne.

C'est naturellement du changement et du croisement des globules et du sérum dans les mélanges phagocytaires 3 et 4 que la dénomination « chiasique » est dérivée.

Les mélanges phagocytaires ayant été mis à l'étuve, puis répandus sur des lames et comptés suivant la manière habituelle, nous réunissons et nous rangeons les résultats de la façon suivante :

a) En divisant le résultat phagocytaire (c'est-à-dire la moyenne de microbes absorbés) de la préparation 1 par celui de la préparation 2, nous obtenons l'index phagocytaire du sang du malade;

b) En divisant le résultat phagocytaire de la préparation 3 par celui de la préparation 2, nous obtenons l'index opsonique du sérum du malade;

c) En divisant le résultat phagocytaire de la préparation 4 par celui de la préparation 2, nous obtenons le pouvoir phagocytaire des leucocytes du malade.

Quelques exemples montreront clairement ce que nous pouvons tirer de cette triade de fonctions phagocytaires.

*Infirmière de chirurgie* présentant une infection streptococcique aiguë provenant d'une piqûre au doigt, température 105° F.

Sérum de la malade + ses globules lavés + suspension de streptocoques.

Résultat phagocytaire : 0,57.

Sérum normal + globules normaux lavés + suspension de streptocoques.

Résultat phagocytaire : 3,9.

Sérum de la malade + globules normaux lavés + suspension de streptocoques.

Résultat phagocytaire : 2,6.

Sérum normal + globules lavés de la malade + suspension de streptocoques.

Résultat phagocytaire : 1,36.

Index phagocytaire du sang de la malade . . . . . 0,15

Index opsonique du sérum de la malade . . . . . 0,65

Pouvoir phagocytaire des leucocytes . . . . . 0,34

Enfant masculin 3 ans, présentant une infection aiguë à streptocoques avec abcès dans les articulations et le tissu cellulaire sous-cutané.

Sérum du malade + ses globules lavés + suspension de streptocoques.

Résultat phagocytaire : 0,2.

Sérum de A. E. W. + globules lavés de A. E. W. + suspension de streptocoques.

Résultat phagocytaire : 1,3.

Sérum du malade + globules lavés de A. E. W. + suspension de streptocoques.

Résultat phagocytaire : 1,75.

Sérum de A. E. W. + globules lavés du malade + suspension de streptocoques.

Résultat phagocytaire : 0,18.

Index phagocytaire du sang du malade . . . . . 0,16

Index opsonique du sérum du malade . . . . . 1,3

Pouvoir phagocytaire des leucocytes . . . . . 0,14

Femme âgée de 55 ans, endocardite à streptocoques.

Sérum de la malade + globules lavés de la malade + suspension de streptocoques. Résultat phagocytaire : 0,82.

Sérum de A. E. W. + globules lavés de A. E. W. + suspension de streptocoques. Résultat phagocytaire : 4,05.

Sérum de la malade + globules lavés de A. E. W. + suspension de streptocoques. Résultat phagocytaire : 0,44.

Sérum de A. E. W. + globules lavés de la malade + suspension de streptocoques. Résultat phagocytaire : 0,12.

Index phagocytaire du sang de la malade . . . . . 0,2

Index opsonique du sérum de la malade . . . . . 0,1

Pouvoir leucocytaire . . . . . 0,03

Des résultats semblables à ceux qui précèdent peuvent être obtenus dans toutes les infections aiguës. Le symptôme prémonitoire d'une grave infection semble être la réduction du pouvoir leucocytaire jointe à l'élévation de l'index opsonique et, comme contre-partie de ces deux facteurs que je viens de mentionner, un abaissement relativement modéré de l'index phagocytaire. Ce type de résultat est observé d'une façon absolument régulière lorsqu'on ajoute au sang *in vitro* des quantités excessives de vaccin. Nous en avons déjà vu des exemples et nous en verrons encore, lorsque nous allons pratiquer le titrage de réponse vaccinnante (*vaccine response test*). Dans les derniers stades graves d'une infection, le pouvoir opsonique est aussi réduit et alors la triade complète des fonctions phagocytaires en est affectée jusqu'à ce que, comme dans le dernier exemple, elles se tiennent très près du point zéro.

Notons en passant ici que les leucocytes peuvent guérir de ce grave état d'empoisonnement, comme nous allons le voir; ils peuvent guérir *in vivo* lorsque les liquides du sang qui les baignent sont rendus plus sains, et ils peuvent guérir *in vitro* quand ils sont transportés et maintenus dans un sérum sain. Et ce qui a été dit plus haut au sujet des troubles du sang associés à une septicémie aiguë peut être complété en disant que le pouvoir séro-bactéricide n'est pas sensiblement réduit dans les infections graves.

### Recherches sur le pouvoir de réponse immunisante du malade.

Quand on a recherché le pouvoir antibactérien du sang et quand on l'a trouvé déficient, ce que nous avons encore à faire est de rechercher si le malade est capable de faire une réponse immunisante, et avec quel vaccin, et avec quelle dose il est capable de fournir la réponse immunisante optimum.

Ceci peut être fait en introduisant des quantités graduées de vaccin dans une série d'échantillons de sang du malade et en voyant s'il se manifeste une amélioration quelconque dans le pouvoir hémobactéricide ou phagocytaire du sang vacciné, ou dans le pouvoir séro-bactéricide ou opsonique de leur sérum.

La recherche sur le pouvoir bactéricide est exclue ici par la

considération que le résultat doit être à notre disposition sans délai et qu'on n'a pas le temps de pratiquer la culture; aussi nous sommes réduits ici à la mesure du pouvoir phagocytaire des sangsensemencés et du pouvoir opsonique de leur sérum.

Laissez-moi vous montrer, dans une série d'exemples, ce que peuvent nous apprendre ces réactions de réponse vaccinale (*vaccine response test*). Il est avantageux de considérer d'abord un exemple provenant du bulletin de traitement de l'enfant J. T. dont le sang fournissait un exemple de fonctionnement du procédé chiasique.

Sang d'un enfant souffrant d'une infection à streptocoques généralisée et sang du médecin sain qui a fourni le sang de l'immuno-transfusion pour cet enfant.

7 mars 1922. Réaction de réponse vaccinale pratiquée *in vitro* avec des sangs défibrinés.

		INDEX strepto-phagocytaire	
		du malade	du donneur
Sang non vacciné . . . . .		0,3	1
Sang vacciné avec 20 streptocoques par cent. cube .		0,3	0,8
— — 40 — —		0,4	0,9
— — 80 — —		0,3	2,3
— — 160 — —		0,2	0,9

9 février 1922. Sang d'un malade souffrant d'une infection aiguë à streptocoques avec suppuration de la mastoïde et sang de A. E. W.

		INDEX strepto-phagocytaire	
		du malade	de A. E. W.
Sang non vacciné . . . . .		0,27	1
Sang vacciné avec 30 streptocoques par cent. cube .		0,1	1,7
— — 60 — —		0,09	1,5
— — 90 — —		0,03	1,45
— — 600 — —		0,25	0,9

Il est clair que, lorsque le sang d'un malade donne de tels résultats, les inoculations intraveineuses de vaccin sont plutôt nuisibles qu'utiles. Ce sont là des cas justiciables de l'immuno-transfusion.

L'exemple suivant se rapporte à l'infirmière de chirurgie et



au même échantillon de sang défibriné qui a été employé pour la première des trois réactions chiasitiques citées plus haut.

Malade souffrant d'une infection streptococcique aiguë provoquée par une piqûre et dont la température était de 105° F.

#### Réaction de réponse vaccinale.

						NUMÉRATION strepto-phagocytaire	
						du sang	du sérum
Sang non vacciné . . . . .						1,81	1,5
Sang vacciné avec 20 streptocoques par cent. cube. .						1,9	2,0
—	—	40	—	—	. . .	1,6	4,7
—	—	80	—	—	. . .	1,4	1,7
—	—	160	—	—	. . .	3,2	2,7

Ces résultats montrent (et nous nous serions peut-être attendu à voir se produire le contraire en vue du résultat de la réaction chiasitique) que le sang de la malade continue à posséder un pouvoir considérable de réponse immunisante et que c'est la vaccination avec 160 streptocoques par centimètre cube qui donna la meilleure réponse. Conformément à ce résultat la malade fut immédiatement inoculée dans la veine avec cette dose de vaccin, soit 700.000 streptocoques.

Malade présentant une septicémie chronique à streptocoques avec endocardite.

#### Réaction de réponse vaccinale.

						INDEX staphylo-opsonique	
Sang non vacciné . . . . .						1,0	
Sang vacciné avec 20 streptocoques par cent. cube. .						1,12	
—	—	50	—	—	. . .	1,18	
—	—	100	—	—	. . .	1,6	
—	—	200	—	—	. . .	1,4	
—	—	1.000	—	—	. . .	2,35	
—	—	4.000	—	—	. . .	1,26	

Ce malade s'est montré nettement apte à être traité par injection intraveineuse de vaccin streptococcique.

*Vérification par les méthodes de laboratoire de l'amélioration obtenue dans les affections microbiennes graves : a) par l'évacua-*

tion du contenu des abcès; *b*) par l'inoculation intraveineuse de vaccins; *c*) par l'immuno-transfusion.

Dans le cas d'infection microbienne grave, il semble qu'il y ait seulement trois méthodes d'intervention thérapeutique susceptibles de donner des résultats. Parmi celles-ci la première est (mais seulement lorsqu'on a affaire à une affection localisée) l'évacuation des collections purulentes infectées, le drainage efficace des tissus entourant une blessure putride, et l'ablation des foyers de l'infection. Ces procédés permettent de mettre un terme à l'auto-inoculation continue et excessive qui empoisonne les leucocytes et empêche la réponse immunisante. Lorsque les procédés mécaniques pour réduire le volume de l'infection sont inapplicables, il semble que nous ayons le choix entre l'inoculation de vaccin (de préférence intraveineuse) et l'immuno-transfusion.

Mais notre tâche scientifique n'est pas terminée quand nous avons mis en œuvre le traitement particulier que nous venons de choisir. La conclusion *a priori* est souvent un guide infidèle. Pour cette raison nous ne sommes pas dispensés de faire la vérification. Et quand il s'agit de vérification, la garantie fournie par les méthodes de laboratoire quantitatives est la seule qui compte finalement, bien que cette dernière ne semble pas pouvoir concourir avec l'impression psychologique produite par l'observation d'une subite amélioration clinique. A ce propos je cite plus bas des exemples dans lesquels les méthodes de laboratoire démontrent d'une façon claire le bénéfice des trois sortes d'interventions thérapeutiques.

Nous avons choisi ces exemples pour illustrer les points encore inédits et en particulier pour montrer l'augmentation du pouvoir antibactérien obtenu par l'immuno-transfusion.

EXEMPLE 1, qui montre l'amélioration du pouvoir phagocytaire et du pouvoir opsonique ainsi que l'augmentation de la capacité leucocytaire et de la réponse vaccinale obtenue par l'évacuation d'un abcès.

Enfant présentant une infection généralisée à streptocoques avec abcès, après deux immuno-transfusions successives de chacune 25 millimètres cubes de sang, le 21 mars 1922 et le 24 mars 1922.

**Réactions chiasitiques.**

27 mars 1922.

Index phagocytaire du sang. . . . .	0,07
Index opsonique du sérum. . . . .	0,8
Capacité phagocytaire des leucocytes . . . . .	0,1

*Ouverture de l'abcès.*

28 mars 1922.

Index phagocytaire du sang . . . . .	1,02
Index opsonique du sérum. . . . .	1,4
Capacité phagocytaire des leucocytes . . . . .	0,9

**Réaction de réponse vaccinale.**

	INDEX strepto-phagocytaire
28 mars 1922.	
Sang non vacciné . . . . .	1
Sang vacciné avec 20 streptocoques par cent. cube. . .	1,3
— — 40 — — . . .	1,6
— — 80 — — . . .	1,6

Pour apprécier l'amélioration, le résultat de cette réaction de réponse vaccinale doit être comparé avec les résultats obtenus avec le sang de l'enfant avant le début du traitement (se reporter plus haut).

La température nocturne de l'enfant depuis trois semaines s'élevait à 103,7 et 105,7 F. avant la première immuno-transfusion, et après la première immuno-transfusion elle était descendue au-dessous de 102,7; après la seconde au-dessous de 101; puis après l'ouverture de l'abcès elle tomba à 99 et 100 et bientôt après redevint normale.

EXEMPLES 2 et 3, montrant l'augmentation du pouvoir phagocytaire et du pouvoir opsonique obtenue par l'immuno-transfusion.

6 mars 1922. Malade présentant une grave septicémie puerpérale. Immédiatement avant l'immuno-transfusion index strepto-opsonique 1,2; immédiatement après 2,0.

7 février 1922. Malade présentant une infection à streptocoques avec suppuration mastoïdienne. Immédiatement avant l'immuno-transfusion index strepto-phagocytaire 0,3; immédiatement après 1,2.

Dans ce dernier cas la malade, trois heures avant l'immuno-transfusion, avait eu un frissonnement avec une température de 106° F. et se trouvait dans un état de cyanose et de demi-coma; elle fut brusquement rappelée à la vie après l'immuno-transfu-

sion, reprit ses couleurs, son état mental redevint normal, la malade se sentit beaucoup mieux, se mit à manger à belles dents, puis s'endormit tranquillement le soir sans réclamer l'administration d'oxygène.

EXEMPLE 4, montrant l'amélioration du pouvoir phagocytaire et de la réponse vaccinale obtenue par la transfusion de sang vacciné *in vitro* avec 100 streptocoques par centimètre cube.

Même malade après deux températures vespérales élevées consécutives.

	INDEX strepto- phagocytaire
9 février 1922. 24 heures avant la seconde immuno-transfusion .	0,27
10 février 1922. Immédiatement avant l'immuno-transfusion . . .	0,0
11 février 1922. 1 jour après l'immuno-transfusion. . . . .	0,7
12 février 1922. 2 jours après . . . . .	1,1
<b>Réaction de réponse vaccinale (1).</b>	
12 février 1922.	
Sang non vacciné . . . . .	1,1
Sang vacciné avec 20 streptocoques par cent. cube . . . . .	1,0
—     —     40     —     —     . . . . .	1,3
—     —     80     —     —     . . . . .	1
14 février 1922. 4 jours après . . . . .	1,3
15 février 1922. 5 jours après . . . . .	1,4

Au sujet de cette seconde immuno-transfusion le rapporteur clinique dit : « Le résultat de la transfusion fut encore magnifique, l'inhalation d'oxygène fut suspendue, la malade reprit ses couleurs, s'alimenta convenablement et passa une très bonne nuit. Après de légères élévations de température traitées par une injection de vaccin streptococcique, la malade guérit rapidement. »

EXEMPLE 5, montrant l'augmentation du pouvoir hémobactéricide obtenue chez le donneur par l'inoculation intraveineuse de 160.000 streptocoques, et chez le malade transfusé par l'immuno-transfusion de 500 cent. cubes de sang du donneur prélevé et défibriné une demi-heure après l'inoculation intraveineuse.

Malade présentant une nécrose de l'os frontal et une infection généralisée ayant pour origine une opération sur les tissus du nez.



On a employé la méthode d'endoculture en cellule-lame, avec ensemencement de doses graduées de staphylocoques dans des échantillons de 50 millimètres cubes de sang.

SANG DU DONNEUR				SANG DU MALADE			
Avant l'inoculation		1/2 heure après l'inoculation		Avant l'immuno-transfusion		24 heures après l'immuno-transfusion	
ensemencés	surviv.	ensemencés	surviv.	ensemencés	surviv.	ensemencés	surviv.
206	44	496	10	264	42	164	3
121	6	145	1	137	20	115	1
48	0	72	0	67	6	50	0
23	1	32	0	49	5	23	0
9	0	17	0	22	3	10	0
10	0	9	0	13	0	0	0
1	0	4	0	3	2	2	0
0	0	0	0	2	0	2	0

### Récapitulation des résultats.

1° Dans l'échantillon de sang du donneur prélevé avant l'inoculation, la totalité de staphylocoques ensemencés fut de 426, dont 4,3 p. 100 se développèrent sous forme de colonies ;

2° Dans l'échantillon de sang du donneur prélevé une demi-heure après l'inoculation il y eut en tout 775 staphylocoques ensemencés dont 1,3 p. 100 donnèrent des colonies ;

3° Dans l'échantillon de sang du malade prélevé immédiatement avant l'immuno-transfusion, il y eut en tout 557 staphylocoques ensemencés dont 14 p. 100 donnèrent des colonies ;

4° Dans l'échantillon de sang du malade prélevé vingt-quatre heures après l'immuno-transfusion, on ensemença en tout 366 staphylocoques dont 1,1 p. 100 donnèrent des colonies.

DISCUSSION. — A propos des résultats précédents et de tous les autres fournis par la méthode d'endoculture en cellule-lame, il est peut-être utile de revenir sur un sujet qui a déjà été discuté et de préciser la signification exacte de ces chiffres. Nous devons considérer que la méthode d'examen employée

n'est pas un procédé d'examen pur et simple, mais en surplus un procédé supplémentaire de vaccination. Il s'ensuit que l'amélioration signalée dans le cas du donneur est réellement le résultat de deux vaccinations : une vaccination *in vivo* et une vaccination surajoutée *in vitro*. Et dans le même ordre d'idée l'amélioration qui se manifeste dans le cas du malade est le résultat d'une immuno-transfusion *in vivo* et d'une vaccination surajoutée *in vitro*. Les choses étant ainsi, nous ne sommes pas autorisés à proclamer que ce sont l'inoculation intraveineuse et l'immuno-transfusion qui ont produit tout ce que montrent à première vue les chiffres dans les tableaux précédents. Mais nous devons déduire comme hypothèse : le sang du donneur et celui du malade ont été respectivement améliorés par nos opérations à un tel point que, s'ils subissaient plus tard une infection occasionnelle correspondant à une inoculation pour le premier de 10.000 ( $496 \times 20$ ) staphylocoques par centimètre cube et pour le second de 3.200 ( $164 \times 20$ ) staphylocoques par centimètre cube, ils manifesteraient une amélioration équivalente à celle des tableaux.

EXEMPLE 6, montrant l'augmentation du pouvoir séro-bactéricide obtenue par l'immuno-transfusion de 300 cent. cubes de sang défibriné prélevés sur un donneur qui avait reçu quatre heures auparavant une inoculation intraveineuse de 150.000 streptocoques.

Malade présentant une température hectique compliquant une infection à staphylocoques des deux seins, qui avait amené leur ablation.

	NOMBRE DES COLONIES de staphylocoques développées dans 50 mm. c. de sérum
Sérum du sang prélevé immédiatement avant l'immuno-transfusion. . . . .	36
Sérum du sang prélevé 3 minutes après l'immuno-transfusion. . . . .	28
Sérum du sang prélevé 1 heure après l'immuno-transfusion. . . . .	24

Ceci équivaut à une augmentation du pouvoir bactéricide de 240 staphylocoques par cent. cube. A la réflexion nous voyons que cette méthode d'essai exclut la possibilité d'une réponse épiphylactique supplémentaire *in vitro*.

EXEMPLE 7, montrant l'augmentation du pouvoir séro-bactéricide pour le staphylocoque obtenue par l'immuno-transfusion de 500 cent. cubes de sang vacciné *in vitro* avec 30 streptocoques par centimètre cube.

Malade présentant une pyrexie chronique consécutive à une série d'infections locales à streptocoques.

	NOMBRE DE COLONIES de staphylocoques qui se développent dans 20 mm. c. de sérum	
Sérum du sang prélevé 24 heures avant l'immuno-transfusion . . . . .	36 34	} 33 1/2
Sérum du sang prélevé immédiatement avant . . . }	44 36	
Sérum du sang prélevé 5 minutes après la transfusion . . . . .	24 28	} 26
Sérum du sang prélevé 24 heures après la transfusion . . . . .	24 20	

Le calcul montre qu'ici le sérum, après l'immuno-transfusion, tue 700 staphylocoques de plus par centimètre cube qu'avant, et que le sérum, vingt-quatre heures après, en tue 900 de plus par centimètre cube qu'avant.

EXEMPLE 8, montrant, par l'emploi de la méthode d'explantation et d'implantation, une augmentation du pouvoir hémobactéricide obtenue par l'immuno-transfusion de 500 cent. cubes de sang d'un donneur, qui avait été inoculé dans la veine une demi-heure auparavant avec 170.000 streptocoques.

Malade présentant une septicémie puerpérale à streptocoques (tableau suivant).

Nous avons ici les résultats de deux méthodes différentes d'investigation. Lorsque nous faisons l'examen par la méthode d'ensemencement et d'endoculture immédiate (comparer ici les colonnes 1, 2 et 4), le sang prélevé immédiatement après l'immuno-transfusion montrait plutôt un affaiblissement qu'une

NOMBRE DE STAPHYLOCOQUES ensemencés dans 5 millim. cubes de sang	NOMBRE DE COLONIES qui se développent sur la gélose en explantant 5 millim. cubes du sang prélevé avant l'immuno-transfusion		NOMBRE DE COLONIES qui se développent sur la gélose en explantant 5 millim. cubes du sang prélevé immédiatement après l'immuno-transfusion	
	Immédiatement	Après 1/2 heure	Immédiatement	Après 1/2 heure
53	32	94	38	48
29	10	53	15	11
10	6	16	10	7
7	5	8	8	1
4 1/2	3	2	5	2
105	56	171	76	69

amélioration. Lorsque nous employions la méthode d'ensemencement et d'endoculture après une demi-heure (comparer les colonnes 1, 3 et 5), le sang qui avait été prélevé immédiatement après l'immuno-transfusion montrait une grande amélioration. Alors que dans le sang prélevé avant l'immuno-transfusion le chiffre des microbes restés vivants montait de 105 à 171, dans le sang prélevé après, ce chiffre tombait de 105 à 76.

On doit rapprocher de cela un point d'un intérêt théorique, en rapport avec l'immuno-transfusion : C'est que, lorsque le donneur ou son sang ont été inoculés avec une trop grande quantité de vaccin, ou lorsqu'un intervalle trop court s'est écoulé entre l'inoculation et la transfusion, il survient, au lieu d'une phase positive, une phase négative comme cela aurait lieu après une injection directe de vaccin.

Je vais maintenant laisser de côté les exemples d'immuno-transfusion pour passer à ceux d'inoculation directe de vaccins chez les individus dont le sang a été jugé capable de donner une réponse immunisante soit après examen direct par la réaction de réponse vaccinale, soit d'après des bases cliniques. Deux exemples suffiront dans ce cas puisque nous opérons ici dans des conditions sanguines qui sont, au fond, les mêmes que celles de l'état de santé.

EXEMPLE 9. — Augmentation du pouvoir hémobactéricide et séro-bactéricide par inoculation intraveineuse de 700.000 streptocoques (160 par centimètre cube de sang circulant).



Infirmière de chirurgie présentant une infection aiguë à streptocoques provoquée par une piqûre au doigt, température 105° F.

Mesure du pouvoir hémobactéricide par ensemencement de staphylocoques, par la méthode de lavis (wash and after wash), dans une série d'échantillons de sang de 10 millimètres cubes dans un long tube capillaire.

	NOMBRE DE COLONIES développées dans les échantillons					TOTAL dans	
	1	2	3	4	5	40 mm. c.	1 c. c.
<i>Soir. 10 heures. Sang immédiatement avant l'inoculation intraveineuse.</i>	+	6	5	2	2	21,5	540
	+	16	8	4	0		
<i>Sang 3 minutes après l'inoculation.</i>	+	6	0	0	0	7	180
	+	6	2	0	0		

Le signe + indique que les colonies étaient trop nombreuses pour permettre d'en faire la numération exacte.

Pouvoir bactéricide, même technique.

	NOMBRE DE COLONIES développées dans les échantillons					TOTAL dans	
	1	2	3	4	5	40 mm. c.	1 c. c.
<i>Après midi. 3 heures. Sérum du sang prélevé 7 heures avant l'inoculation intraveineuse.</i>	+	20	12	5	1	37	925
	+	17	14	3	1		
	+	19	12	5	2		
<i>Soir. 10 heures. Sérum du sang prélevé immédiatement après l'inoculation.</i>	+	12	9	0	0	22,5	560
	+	17	4	3	0		
<i>Nuit. 12 h. 30. Sérum du sang prélevé 2 h. 1/2 après l'inoculation.</i>	+	10	5	2	0	14,5	360
	+	9	2	1	0		

Le lendemain matin la température de la malade était tombée de 103° à 99°, et elle était complètement hors de danger.

Le doigt commença ensuite à suppurer et fut incisé et la malade guérit très rapidement.

EXEMPLE 10. — Augmentation du pouvoir hémobactéricide obtenue par inoculation intraveineuse de 30.000 streptocoques.

Malade M..., présentant une septicémie à streptocoques avec endocardite. Méthode d'endoculture en cellule-lame.

NOMBRE DE STAPHYLOCOQUES ensemencés	NOMBRE DE COLONIES développées dans le sang prélevé avant l'inoculation intraveineuse	NOMBRE DE COLONIES qui se développent dans le sang prélevé 20 minutes après l'inoculation intraveineuse
160	31	12
80	16	9
40	7	7
20	3	3
10	4	0
5	0	0
315	61	31

J'ai fini maintenant d'exposer les résultats d'expériences individuelles et je voudrais, comme conclusion, établir deux considérations d'un ordre plus général.

La première a trait à la question d'espérances thérapeutiques ouverte ici. Les expériences que nous avons étudiées ont mis en lumière le fait que, dans l'immunisation, la question de quantité domine la situation. Il existe une série particulière de doses de vaccin qui seules peuvent provoquer la réponse immunisante du sang, et nous ne pouvons vérifier l'effet qui s'est produit qu'en employant une dose d'essai convenable.

Une fois admis le principe que le pouvoir antimicrobien peut être remonté dans certaines limites et que ceci permet de tuer un nombre déterminé de microbes additionnels, il est possible de chercher des chiffres.

Dans les expériences contenues dans ce mémoire, le pouvoir bactéricide augmenté s'élève, comme le montre le calcul, à un taux de plusieurs centaines ou exceptionnellement plusieurs

milliers de staphylocoques par centimètre cube. Il ne nous donne jamais une augmentation de morts atteignant des dizaines ou des centaines de mille par centimètre cube. Ces chiffres nous indiquent les limites supérieures et inférieures.

Entre ces bornes peut trouver place un travail de thérapeutique plein de promesses. Mais nous ne devons pas fermer les yeux sur le fait, si bien qu'il existe une dose d'essai de microbes vivants que nul sang immunisé ne peut combattre; de même il y a une limite bien définie d'infection que nulle inoculation intraveineuse de vaccin ni l'immuno-thérapie ne peut vaincre. Et dans l'estimation du degré de l'infection nous devons tenir compte, non seulement des microbes circulant actuellement dans le sang (ceux-ci dans les cas très graves de septicémie à streptocoques ne s'élevant pas à plus de quelques centaines par centimètre cube), mais de la quantité totale des microbes se trouvant dans l'organisme. Cela en représente un nombre indéfini de millions.

Le second point, — et c'est un point sur lequel il importe de revenir à la fin de ce mémoire, qui nous a montré au début comment un code de principes cède toujours la place à un autre, — est qu'il est essentiel de considérer que, dans tous les codes, il y a certains articles basés seulement sur des déductions *a priori* et d'autres qui sont directement basés sur des expériences. Nous devons remarquer aussi que, quand un code succède à un autre, les articles qui reposent sur des hypothèses incertaines deviennent de moins en moins nombreux et ceux qui reposent directement sur des faits d'expérience prédominent de plus en plus. Et ce remplacement progressif de l'hypothèse par le fait nous conduit enfin aux principes durables.

## PLURALITÉ DES TRÉPONÈMES

par L. FOURNIER et A. SCHWARTZ.

Les chancres syphilitiques, obtenus chez le lapin par scarification (scrotum, muqueuse préputiale ou vaginale) avec des virus provenant de malades différents, sont loin de présenter des caractères et une évolution identiques. Nous avons distingué deux types principaux de ces chancres d'inoculation superficielle, séparés par des dissemblances assez considérables pour que l'on puisse admettre que les tréponèmes qui les produisent appartiennent à des races, ou tout au moins à des variétés différentes (1).

TYPE F A. En janvier 1921, deux lapins sont inoculés par scarification au scrotum, à droite et à gauche, avec de la sérosité d'un chancre humain. Après une incubation de dix-huit jours, apparaissent, au niveau des inoculations, de petits chancres nains herpétiformes, riches en tréponèmes; ces chancres se cicatrisent spontanément en deux à trois semaines (voy. fig. 1).

Nous avons entretenu depuis deux ans cette souche de tréponèmes par passages successifs sur de nombreux animaux. Quelques mois après la guérison du chancre, un certain nombre de ceux-ci ont présenté des lésions secondaires sous forme de nodules dermiques plus ou moins volumineux, riches en tréponèmes, et même, ultérieurement, de grosses lésions ulcéro-croûteuses, assez pauvres en tréponèmes pour qu'il fût le plus souvent impossible d'en trouver à l'examen ultramicroscopique, mais dont l'inoculation positive à des lapins neufs démontrait la nature spécifique (voy. fig. 2).

Les chancres obtenus par passages successifs en partant soit d'un chancre, soit de nodules secondaires, soit de syphilides ulcéro-croûteuses, ont toujours été, sans aucune exception, des petits chancres érosifs ou herpétiformes, parfois extrêmement petits, qui par leur période d'incubation (deux à trois semaines), leur aspect morphologique, leur durée (une à trois semaines), leur cicatrisation rapide rappelaient les caractères du chancre initial des deux premiers lapins.

TYPE F B. En février 1921, deux lapins sont inoculés par scarification au niveau du scrotum avec de la sérosité d'un chancre humain. Après une incubation d'un mois et demi chez l'un et de trois mois chez l'autre, apparaissent, aux points d'inoculation, de volumineuses papules œdémateuses dont la sérosité contient une énorme quantité de tréponèmes et qui deviennent, quelques jours plus tard, de gros chancres ulcéreux, à base indurée,

(1) FOURNIER et SCHWARTZ. *Société de Dermatologie*, novembre 1921.



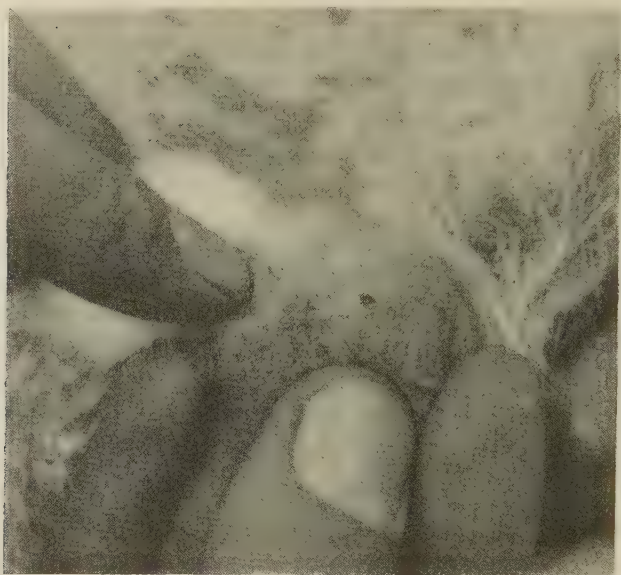


FIG. 1. — Chancre du lapin, type FA.



FIG. 2. — Syphilides ulcéro-croûteuses (tréponèmes FA).

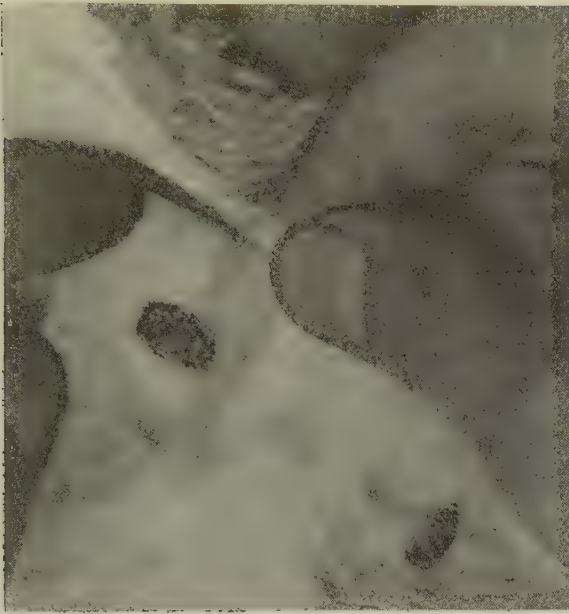


FIG. 3. — Chancre du lapin, type FB.

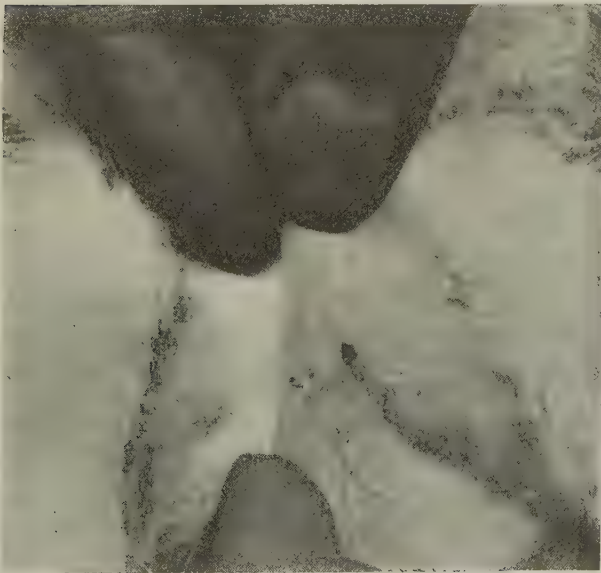


FIG. 4. — Chancre du type FA, obtenu en partant des syphilides ulcéro-croûteuses (voyez fig. 3).

envahissant profondément les tissus. Ces chancres durent deux mois puis guérissent lentement sans laisser de cicatrice très apparente.

De nombreux animaux sont inoculés par passages successifs et toujours par scarification superficielle soit de la peau au niveau du scrotum, soit des muqueuses préputiales ou vaginales. Quelques-uns présentent, quelques mois après le chancre, de gros nodules intrascrotaux très riches en tréponèmes et réinoculables (voy. fig. 3).

Sans aucune exception les chancres de passage ont présenté les mêmes caractères et la même évolution que les chancres initiaux des deux premiers lapins; ce sont toujours de gros chancres ulcéreux, à longue incubation (un mois et demi à trois mois) et de longue durée (deux mois en moyenne).

Cette conservation immuable des caractères du type FA et du type FB chez de nombreux animaux (60 du type FA, 40 du

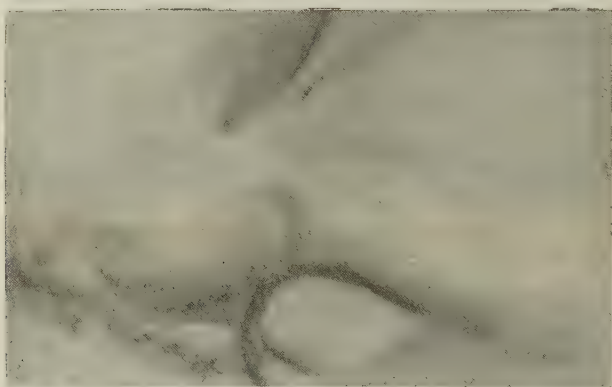


FIG. 5. — Evolution du chancre type FA (à droite) et du chancre type FB (à gauche) chez le même lapin.

type FB) montre que, chez le lapin du moins, la détermination de telle ou telle forme de chancre syphilitique dépend de la souche de virus et non des réactions particulières de l'organisme de chaque animal inoculé; mais la preuve complète de ce fait est fournie, nous semble-t-il, par l'expérience suivante :

TYPE FA ET TYPE FB SUR UN MÊME LAPIN. — Un lapin est inoculé par scarification du scrotum, à droite avec du virus FA, à gauche avec du virus FB.

Après une incubation de trois semaines, apparaît à droite un chancre du type FA, herpétiforme, qui dure une vingtaine de jours et se cicatrise. Son évolution est presque terminée lorsque se produit à gauche une grosse papule œdémateuse, qui devient rapidement un gros chancre ulcéreux présentant les caractères et l'évolution du chancre d'origine FB.

Cette expérience, renouvelée à plusieurs reprises, donne toujours les mêmes résultats (voy. fig. 5, 6 et 7).

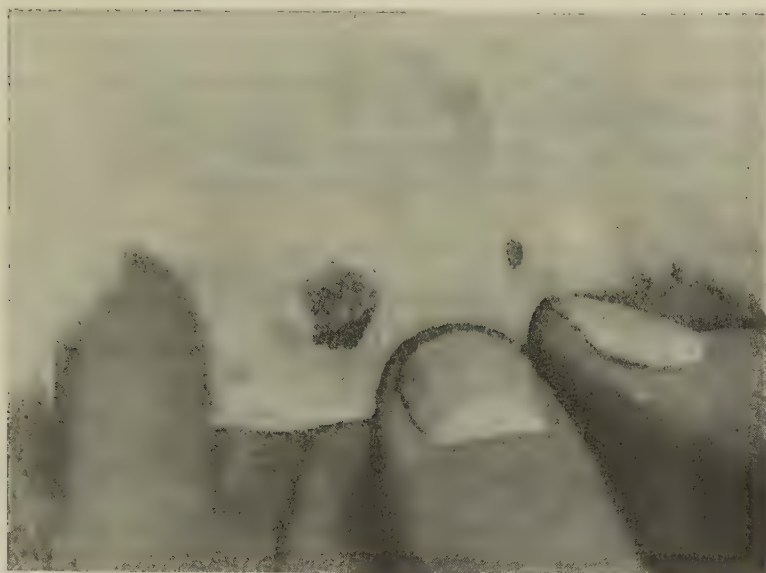


FIG. 6. — Voyez figure 5.

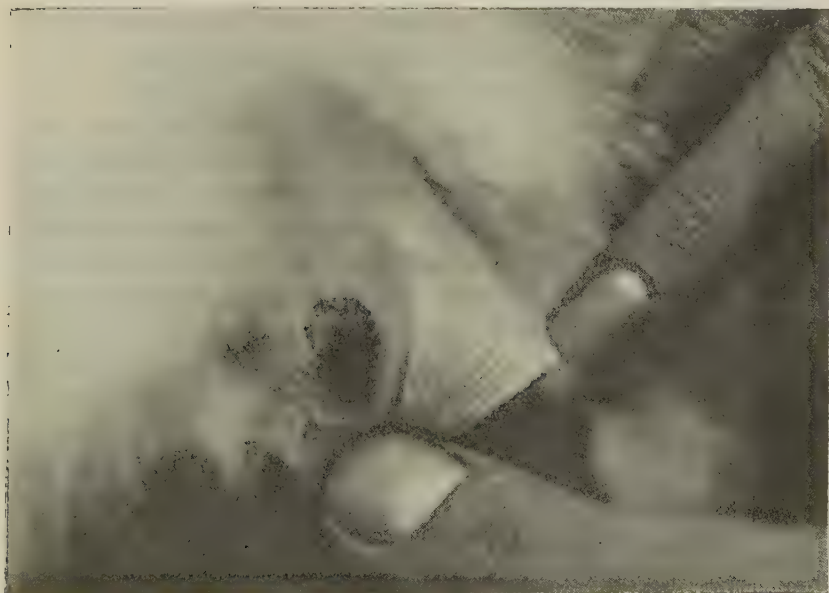


FIG. 7. — Voyez figures 5 et 6.



Les deux virus F A et F B conservent donc (fig. 5, 6, 7), en quelque sorte, leur individualité propre et déterminent, chez un même animal, des réactions tissulaires différentes, particulières à chacun d'eux.

De plus, cette individualité nous semble être mise hors de doute par l'expérience des inoculations croisées.

INOCULATIONS CROISÉES. — Plusieurs lapins, un mois environ après la cicatrisation d'un chancre du type F A et ne présentant pas de lésions secondaires, sont inoculés de nouveau, les uns avec un virus F A, les autres avec un virus F B.

Le résultat est négatif pour les premiers. Chez la moitié des seconds, le chancre du type F B apparaît dans les délais ordinaires avec tous ses caractères.

Inversement, des lapins guéris d'un chancre du type F B sont réfractaires à une nouvelle inoculation du virus F B, mais peuvent prendre le virus F A et présenter, après une courte incubation, un petit chancre herpétiforme ou érosif à évolution rapide.

Ces dernières expériences démontrent évidemment une certaine différence de spécificité entre les deux virus F A et F B. Il devient donc impossible de les regarder comme identiques.

Bien que l'examen ultramicroscopique ne nous ait révélé aucune différence morphologique entre ces deux tréponèmes, il y a donc lieu d'admettre, nous semble-t-il, qu'ils appartiennent à deux variétés distinctes.

Nous reviendrons ultérieurement sur l'étude histologique des lésions, ainsi que sur l'étude des rapports de ces chancres expérimentaux avec les chancres humains dont ils proviennent. Nous avons voulu nous borner à enregistrer ici des faits expérimentaux, capables peut-être de servir, dans une certaine mesure, à résoudre l'importante question de l'unicité ou de la pluralité des virus syphilitiques.

## PLURALITÉ DES VIRUS SYPHILITIQUES

par C. LEVADITI et A. MARIE.

(Avec la planche III.)

Les faits exposés dans notre Mémoire « *Etudes sur le tréponème de la paralysie générale* », paru dans ces *Annales* (1), nous avaient semblé assez démonstratifs pour motiver une conception d'après laquelle la parasyphilis (tabes et paralysie générale) serait provoquée par un tréponème différent du spirochète de la syphilis habituelle, cutanée, muqueuse et viscérale. En opposant ainsi la variété tréponémique *neurotrope* à la variété *dermotrope*, nous avons tenté de résoudre certains problèmes encore obscurs se rapportant à la pathogénie de la syphilis nerveuse, tels les caractères clinique et anatomo-pathologique de la parasyphilis, l'inefficacité du traitement spécifique appliqué à la maladie de Bayle, etc.

Depuis, nous avons continué nos recherches. En possession de nouvelles souches de tréponèmes neurotropes (2), nous avons vérifié nos constatations antérieures; de plus, nous avons établi la transmissibilité de l'infection spirochétienne par contact sexuel, chez le lapin (3). Cette découverte nous a permis d'étudier l'hérédité syphilitique neurotrope, en précisant le sort des rejetons issus de procréateurs contaminés par le spirochète de la paralysie générale (4).

Nous en étions là, lorsque Arzt et Kerl (5), Jacobsthal (6), Schereschewsky (7), Klarenbeck (8) décrivirent la *Spirochétose*

(1) LEVADITI et MARIE. Ces *Annales*, 1919, 33, p. 741.

(2) LEVADITI, MARIE et BANU. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1919, 169, p. 742.

(3) LEVADITI, MARIE et BANU. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1920, 170, p. 102.

(4) LEVADITI, MARIE et ISAÏCU. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1921, 85, p. 342; LEVADITI et MARIE. *Arch. int. de Neurologie*, 1923, 42, p. 1.

(5) ARZT et KERL. *Wiener Gesel. für Ärzte*, avril 1914; *Wiener klin. Woch.*, 1914, n° 29; *Dermat. Zeitschr.*, 1920, n° 2; *Dermatol. Woch.*, 1920, 71, p. 1047.

(6) JACOBSTHAL. *Dermatol. Woch.*, 71, n° 33.

(7) SCHERESCHEWSKY. *Berl. klin. Woch.*, 1920, n° 48, p. 1142.

(8) KLARENBECK. Ces *Annales*, 1921, 35, n° 5, p. 326.

*spontanée du lapin*, maladie provoquée par un spirochète ressemblant au *Treponema pallidum*. Cette maladie se manifeste par des lésions papulo-érosives localisées au prépuce, au scrotum, à la muqueuse vaginale, autour des narines et sur le bord palpébral, lésions qui ressemblent à celles que détermine, chez la même espèce, le virus neurotrope de la parasymphilie.

Cette découverte posa à nouveau le problème de l'étude expérimentale de la syphilis, au moyen d'essais faits sur le lapin. Jusqu'alors, on n'hésitait pas à attribuer les manifestations provoquées par l'inoculation au lapin de matériaux de provenance humaine, au virus contenu dans ces matériaux. Dorénavant, on devait se demander s'il ne s'agissait pas d'une infection spontanée, apparaissant, à l'occasion de l'inoculation, pratiquée sur des animaux en puissance d'une spirochétose latente. Bon nombre, parmi les conclusions formulées antérieurement, se trouvaient ainsi remises en question, et parmi elles, celles que nous avons formulées au sujet de la pluralité des variétés tréponémiques [Klarenbeck (*loc. cit.*) et Pagniez (1)].

Nous fûmes ainsi conduits à reprendre nos recherches, en attachant une attention toute particulière aux causes d'erreur qui pourraient se glisser par suite de l'apparition possible de cette spirochétose spontanée. L'étude de cette maladie, faite en collaboration avec M. Isaicū (2), ainsi que de nombreux essais d'immunité croisée, nous ont permis de confirmer nos anciennes conclusions et de les élargir. Il ne saurait plus être question, actuellement, d'une seule variété de *Treponema pallidum*. Le spirochète découvert par Schaudinn comporte de nombreuses variétés douées de propriétés biologiques particulières, de virulences inégales, d'organotropisme variable. Nous connaissons déjà certaines de ces variétés; d'autres restent à découvrir.

Cette conception, qui n'a rien de surprenant, puisque conforme à ce que laissaient prévoir les analogies entre le tréponème de la syphilis et les autres spirilles pathogènes (ceux de la fièvre récurrente; en particulier), n'est pas unanimement

(1) PAGNIEZ, Discussion orale. *Soc. de Biol.*, 1920.

(2) LEVADITI, MARIE et ISAICŪ. *C. R. Soc. de Biol.*, 1921, 85, p. 51. — LEVADITI, MARIE et NICOLAU. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1921, 172, 13 juin, p. 1542.

acceptée. Certains auteurs, entre autres Sicard (1), Sézary (2), Marchand (3), Plaut et Mulzer (4), refusent d'y souscrire et en proposent d'autres. Nous résumerons plus loin les critiques formulées par ces auteurs, ainsi que leurs théories personnelles. Pour l'instant, nous exposerons les données qui découlent de nos nouvelles expériences.

## I. — Pluralité du virus dermatrope.

Le *virus dermatrope* est, d'après nous, un tréponème adapté au segment non invaginé de l'ectoderme (peau et muqueuses), et à certains organes dérivés de l'endoderme et du mésoderme. Cette variété provoque le chancre, lorsqu'elle envahit les revêtements cutané ou muqueux par la *voie exogène*. Quelquefois elle se localise sur le névraxe et ses enveloppes, mais pour y déterminer des lésions (gommès, artérite, méningite aiguë) différentes de celle de la parasyphilis, tant par leurs caractères cliniques et microscopiques, que par le bénéfice qu'elles tirent de la médication spécifique.

Le tréponème dermatrope apparaît, au premier abord, comme étant peu sujet à des variations concernant ses propriétés biologiques, et cependant il n'en est rien. *Tout porte à croire, en effet, qu'il constitue un groupe, représenté par une multitude de variétés douées d'activité pathogène différente* (variétés analogues aux diverses races de pneumocoque, de méningocoque ou de streptocoque). Cette conception, qui élargit sensiblement notre hypothèse des virus dermatrope et neurotrope, a été formulée récemment par L. Fournier et Schwartz (5) qui l'ont étayée sur des données expérimentales, cliniques et thérapeutiques. Elle s'appuie aussi sur nos propres investigations, dont voici quelques exemples :

A. — Nous avons comparé, au point de vue de leur virulence et de la facilité avec laquelle elles s'adaptent à l'organisme du

(1) SICARD. *La Presse Médicale*, 1920, p. 513 et 510.

(2) SÉZARY. *Revue neurologique*, 1921, 28, n° 4, p. 337.

(3) MARCHAND. *La Presse Médicale*, 1921, n° 70, p. 695.

(4) PLAUT et MULZER. *Münch. med. Woch.*, 1922, n° 14, p. 496.

(5) FOURNIER et SCHWARTZ. *Bull. de la Soc. de Dermatologie*, 1921. — SCHWARTZ, L'abortion de la syphilis. Thèse de Paris, Picart, 1921; *Ces Annales*, 37, p. 183.



lapin, deux souches de tréponèmes dermatropes. La souche *R*

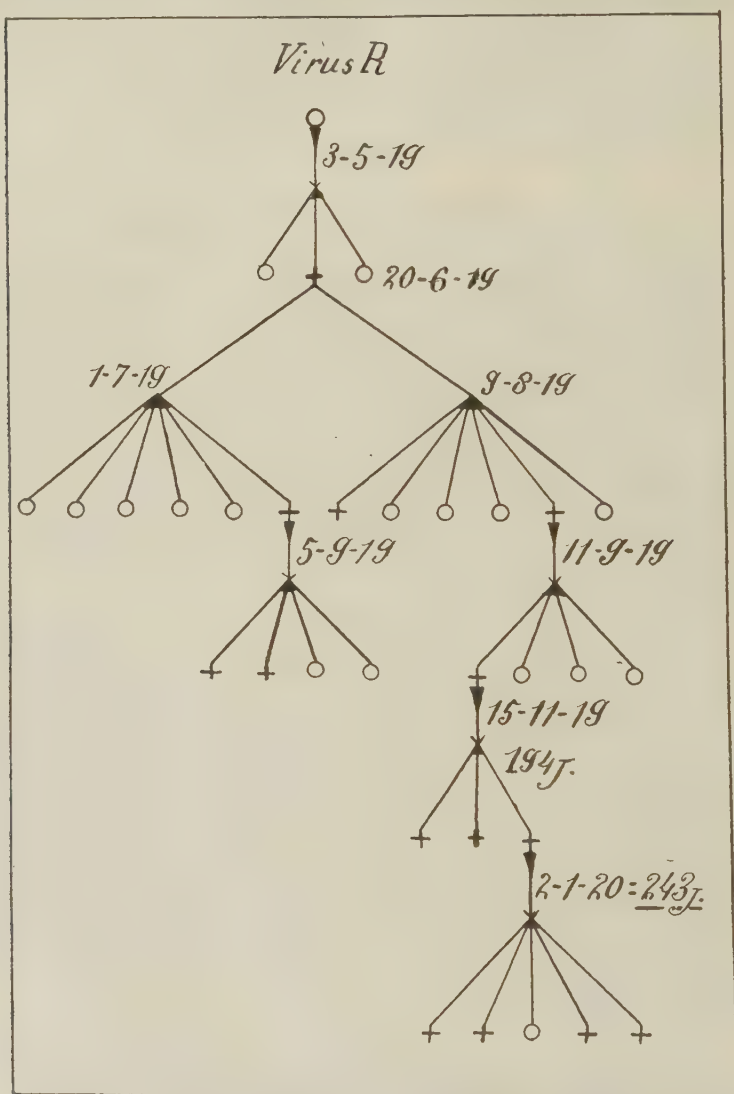


FIGURE 1.

provenait d'un chancre humain âgé de quelques jours, excisé dans le service de M. Ravaut (1), le 3 mai 1919. Des fragments

(1) Nous prions M. Ravaut de recevoir nos meilleurs remerciements pour l'aide qu'il a apportée à ces recherches.

de ce chancre furent inoculés au scrotum du lapin par le procédé des greffes hypodermiques. Sur les trois animaux infectés, *un seul* contracta un syphilome scrotal le 20 juin 1919, conte-

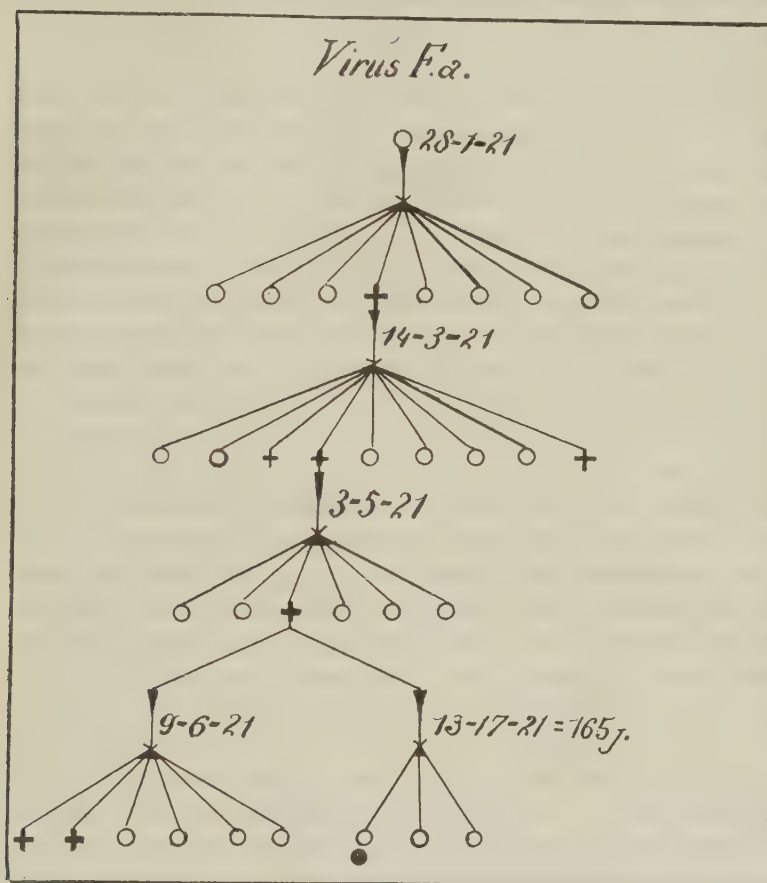


FIGURE 2.

nant des spirochètes. Il servit à pratiquer deux passages, l'un le 1<sup>er</sup> juillet 1919, l'autre le 9 août 1919. A partir de ce moment, des passages réguliers, au nombre de *quatre*, furent réalisés jusqu'au 2 janvier 1920, soit pendant deux cent quarante-trois jours.

La figure 1 résume l'issue de ces tentatives de passages. On constate que la souche R s'est adaptée facilement à l'organisme

du lapin. Déjà le cent quatre-vingt-quatorzième jour, elle fournissait trois résultats positifs, sur trois inoculations, et il en fut de même le deux cent quarante-troisième jour (quatre résultats positifs sur cinq inoculations). Or, au début, *un seul parmi les six lapins infectés avait contracté la syphilis*.

B. — Il n'en fut pas de même de la souche FA. Cette souche, que nous devons à l'obligeance de MM. Fournier et Schwartz (1), provient, comme la précédente, d'un chancre syphilitique; elle fut inoculée la première fois au lapin en janvier 1921. Nous l'avons eue entre les mains le 28 janvier 1921; elle engendrait, à cette époque, des petits syphilomes scrotaux superficiels, sans induration profonde. Un premier passage fut fait le 28 janvier 1921 (même procédé des greffes sous-scrotales), suivi de quatre autres, dont le dernier date du 13 juillet 1921 (soit pendant une période de cent soixante-cinq jours). Or, l'examen de la figure 2 montre que, *contrairement à la souche R, et malgré le fait que la variété FA fut entretenue bien plus longtemps sur le lapin, la souche FA s'adaptait très difficilement à l'organisme du lapin*. En effet, au quatrième passage, deux animaux seulement, sur les six inoculés, contractèrent une lésion spirochétienne, et, au cinquième passage, tous les lapins restèrent indemnes. De plus, les lésions déterminées par cette dernière souche étaient peu développées et fugaces; elles apparaissaient après une incubation de longue durée.

C. — La souche appelée dans notre premier Mémoire (1914-1919) *virus Truffi*, différait, elle aussi, des deux variétés précédentes. Le chancre qu'elle provoquait, chez le lapin, était souvent très volumineux, induré, à centre ulcéré; les résultats des inoculations étaient presque constamment positifs. Grâce à l'amabilité de M. le professeur Silberschmidt, de Zurich, nous sommes rentrés, depuis peu, en possession de la souche tréponémique isolée par Truffi en 1908. Elle nous a servi à réaliser de nombreux passages sur le lapin. Or, après un intervalle de huit ans, pendant lequel cette variété fut entretenue sur cette espèce animale, les propriétés du germe sont

(1) Voy. Ces *Annales*, 37, p. 185.

restées les mêmes : fréquence des résultats positifs, gros chancres scrotaux, tous ulcérés et indurés.

D. — Fournier et Schwartz ont comparé, au point de vue de la virulence pour le lapin, deux variétés tréponémiques, *FA* et *FB*, provenant toutes deux de syphilomes primaires humains. Ces deux variétés se sont montrées manifestement différentes. L'une d'elles (la souche *FA*), inoculée par scarification scrotale, produit des érosions superficielles, sans induration, guérissant rapidement, tandis que l'autre (la souche *FB*) détermine des chancres indurés et ulcérés, qui mettent bien plus longtemps à se cicatriser. Ces différences apparaissent nettement, lorsqu'on a soin d'inoculer, simultanément, les deux variétés au même animal et par le même procédé. Enfin, *l'une de ces souches tréponémiques ne vaccine pas contre l'autre* (Fournier et Schwartz).

. \*

Il résulte de l'ensemble de ces données expérimentales que, *malgré leur origine commune (syphilome primaire), quatre souches de TREPONEMA PALLIDUM se comportent comme autant de variétés dissemblables par leur virulence, par les caractères des lésions qu'elles provoquent chez le lapin, et aussi par l'aptitude plus ou moins grande à s'adapter aux tissus de cette espèce animale.*

Tout récemment, Plaut, Mulzer et Neubürger (1) ont précisé une méthode permettant de dépister l'infection syphilitique, chez le lapin, même lorsque cette infection ne se traduit pas par des manifestations locales renfermant des tréponèmes. Il s'agit de l'examen du liquide céphalo-rachidien, au point de vue de sa teneur en lymphocytes : *la lymphocytose rachidienne est un signe pathognomonique de la syphilis, chez le lapin.* Or, dans des expériences faites avec deux souches de virus dermatrope, la souche « *Frankfort* » et la souche « *Munich* », Plaut et ses collaborateurs constatent des différences nettes au point de vue des réactions rachidiennes. La variété « *Frankfort* » détermine rarement de la lymphocytose, tandis que le liquide céphalo-rachidien

(1) PLAUT, MULZER et NEUBÜRGER. *Münch. med. Woch.*, 1922, n° 14, p. 498.



est presque constamment altéré chez les animaux contaminés avec la variété « Munich ». Le résultat est le même, quel que soit le mode d'infection (voie testiculaire, ou inoculation intravasculaire chez les tout jeunes lapins). Les auteurs concluent ainsi : « *Les différences constatées entre les deux souches de spirochète, au point de vue de leur tendance à produire des modifications du liquide céphalo-rachidien, montrent qu'elles se comportent comme* DEUX VARIÉTÉS BIOLOGIQUES DISSEMBLABLES ». Ainsi, les chercheurs allemands partagent l'opinion formulée en 1914 par Levaditi et Marie (1), au sujet de la pluralité des races tréponémiques; nous reviendrons plus loin sur les critiques qu'ils formulent au sujet de la théorie du virus neurotrope.

\*  
\* \* \*

Les conclusions qui découlent des expériences sur le lapin sont confirmées par les constatations concernant *la virulence des diverses variétés de TREPONEMA PALLIDUM pour l'homme*.

Nous avons montré, en 1919, que le virus dermatrope de Truffi était encore virulent pour l'homme (inoculation accidentelle du 7 janvier 1914), malgré de nombreux passages sur le lapin, effectués pendant une période de *six ans*, de 1908 à 1914. Toutefois, son activité pathogène paraissait assez faible. En effet, la lésion primitive était réduite à une macule légèrement érythémateuse, la réaction de Bordet-Wassermann n'est devenue positive que quarante jours après l'accident, et il n'y eut jamais de manifestations secondaires. Fait important, un examen ultérieur du même sujet, pratiqué en mars 1919, soit près de cinq ans après l'infection, ne révéla chez lui aucun accident syphilitique; la séro-réaction était devenue négative, malgré l'absence d'un traitement bien suivi.

*La variété de tréponème dermatrope « Truffi », qui, six ans après sa première inoculation au lapin, se montrait très virulente pour cette espèce animale (gros chancres indurés et ulcérés, généralisation, etc.), ne possédait donc qu'une activité pathogène atténuée pour l'homme. Or, actuellement, huit ans après ce dernier essai, cette variété n'a pas changé sensiblement.*

(1) LEVADITI, MARIE et DANULESCO. C. R. de l'Acad. des Sc., 1914.

Lorsque l'un de nous, en collaboration avec Sazerac (1), Fournier, Navarro-Martin et Schwartz (2), a établi que les dérivés bismuthiques et le *Stovarsol* (3) sont capables de réaliser l'avortement de la syphilis, s'ils sont administrés pendant l'évolution du syphilome primaire, nous avons entrepris l'essai suivant :

OBSERVATION. — Un de nos collaborateurs, qui n'avait jamais eu la syphilis et dont la séro-réaction était négative, s'offrait à expérimenter sur lui la virulence de la variété Truffi.

Le 7 mars 1922, on scarifie la face externe des deux deltoïdes et on dépose sur les surfaces scarifiées du suc prélevé sur un chancre scrotal de lapin, riche en tréponème. Le septième jour, on constate encore les traces de la scarification. Le 18 mars, léger érythème papuleux le long des stries. Le quinzième jour (22 mars), papule squameuse à contour irrégulier, circonscrite (planche I, fig. 13 à 17). Même état, un peu plus accentué, le 28 mars, le 4 avril et le 28 avril. Pas d'ulcération, nulle induration, absence de tuméfaction ganglionnaire. A partir du 19 avril, traitement par le *Stovarsol* (voie gastrique) à raison de 1 gramme à 1 gr. 50 par jour, en 3 séries (total : 15 gr. 50). Les lésions s'effacent progressivement; elles sont sèches le 1<sup>er</sup> mai, et guérissent le 17 mai. La réaction de Bordet-Wassermann, négative le 29 mars, manifestement positive le 28 avril (cinquante et un jours après l'inoculation), devient négative le 16 juin et se maintient négative ultérieurement. *Aucun accident secondaire.*

Cet essai montre que la variété Truffi, qui était peu virulente pour l'homme, six ans après sa première inoculation au lapin, s'est maintenue telle après QUATORZE ANS de passages réguliers sur cette espèce animale.

Or, il n'en est pas de même de la variété tréponémique R (p. 192). Une inoculation faite sur un sujet porteur d'un syphilome âgé de cinq jours nous a permis d'établir que cette variété est manifestement différente de la précédente, au point de vue des caractères qu'offrent les lésions engendrées chez l'homme.

OBSERVATION. — X..., porteur d'un petit chancre syphilitique du fourreau, âgé de cinq jours, diagnostiqué microscopiquement (Bordet-Wassermann négatif), est inoculé au bras gauche, avec le suc d'un syphilome de lapin (virus R). L'inoculation a été faite le 29 décembre 1918. Voici les passages que ce virus avait subis jusqu'à cette date :

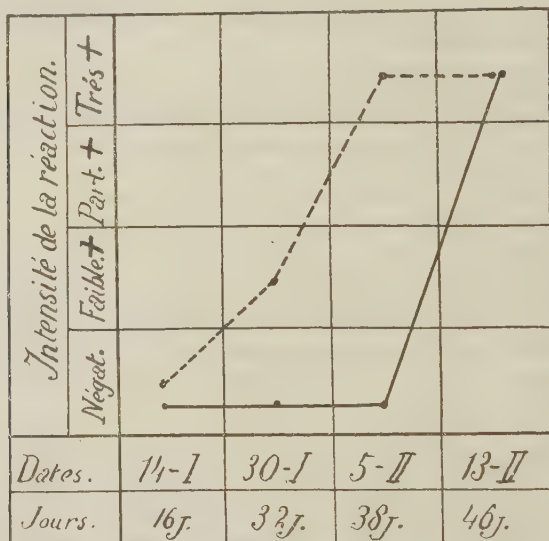
(1) SAZERAC et LEVADITI. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1921, 172, p. 1394; 173, p. 335 et 1201; 174, p. 128; *Ces Annales*, 1922, 36, p. 1. — L. FOURNIER et L. GUÉNOT, *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1921, 173, p. 674; *Ces Annales*, 1922, 41, p. 14.

(2) FOURNIER, NAVARRO et SCHWARTZ. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1922, 174, p. 893, 1370; *ces Annales*, 1922, 36, p. 729.

(3) Acide acétylaminophénylarsinique ou 190.

Première inoculation (chancre humain). *Lapin* 93 . . le 3 mai 1918.  
 Premier passage. . . . . *Lapin* 53 . . le 9 août 1918.  
 Deuxième passage. . . . . *Lapin* 24/4 . le 11 septembre 1918.  
 Troisième passage . . . . . *Lapin* 32/4 . le 15 novembre 1918.

Après une incubation de seize jours, le sujet montre des papules couvertes de squames, le long des stries de scarification; trente-deux jours après, ces lésions s'accroissent et s'accompagnent d'une tuméfaction des ganglions satellites. Le trente-septième jour apparaît une zone érythémateuse qui



— : Méthode de Wassermann type.

--- : Procédé simplifié de Levaditi et Latapie

COURBE 1.

entoure l'accident primaire. Celui-ci s'ulcère et s'indure le 20 février. Légère éruption secondaire le 15 février. Traitement par l'arsenobenzol. Guérison des lésions primaires et de la roséole (planche I, fig. 6, 12 et 23).

Ce cas nous a permis de suivre pas à pas la marche de la réaction de Bordet-Wassermann, par les deux méthodes couramment employées, la *méthode simplifiée* (utilisée à l'Institut Pasteur) et le *procédé type de Wassermann*. Il résulte de la courbe ci-dessus (courbe I) que le premier de ces procédés, basé sur l'emploi de sérums non chauffés, fournit une réaction faiblement positive déjà le 30 janvier, et une réaction *fortement positive*

le 5 février (*trente-huitième jour*), tandis que la méthode de Wassermann type montre une *réaction négative* le 5 février et *positive* le 13 février (*quarante-sixième jour*). Les renseignements fournis par le *procédé simplifié* sont donc plus précoces que ceux indiqués par la méthode de Wassermann; encore une preuve en faveur de la supériorité du premier procédé sur le second.

Dans une nouvelle série de recherches, nous avons inoculé, à des porteurs de chancres syphilitiques très jeunes (âgés de moins de huit jours), diagnostiqués microscopiquement, les variétés tréponémiques FA et FB de Fournier-Schwartz, dont nous avons décrit les caractères précédemment. L'examen de la planche I (fig. 1 à 5, 7 à 11, 18 à 22) montre que les deux virus agissent différemment. La variété FA, qui, chez le lapin, provoque des lésions érosives superficielles, détermine, chez l'homme, un syphilome peu induré, entouré d'une zone érythémateuse circonscrite et qui s'ulcère superficiellement, sans se couvrir de croûtes. Par contre, la souche B engendre chez l'homme, comme chez le lapin, un accident primaire induré, à bords taillés à pic, qui s'ulcère profondément et ne tarde pas à se couvrir de croûtes épaisses. Ces différences persistent au cours des modifications que subissent ces lésions sous l'influence du traitement spécifique (Trépol).

\*  
\* \*

Ainsi tout porte à croire que le tréponème dermatrope ne représente pas un tout uniforme invariable. Il existe plusieurs spirochètes doués d'affinités pour les tissus dérivés de l'ectoderme. Ils diffèrent entre eux par le degré de leur virulence, tant pour l'homme que pour les animaux, et vraisemblablement aussi par d'autres qualités biologiques et morphologiques encore ignorées, faute de méthodes plus précises. Ciarla (1) vient de montrer, à ce propos, que chez les hérédosyphilitiques, le *Treponema pallidum* peut revêtir d'autres aspects que chez les sujets atteints de spécificité acquise.

Rien de surprenant alors que des considérations cliniques, thé-

(1) CIARLA. *Bollettino dell Istituto Seroterapico Milanese*, juillet 1921, n° 2.



rapeutiques et expérimentales nous aient conduits à admettre qu'en plus des variétés spirochéliennes dermatropes, multiples et polymorphes, il existe une variété neurotrope, différente des premières par son aptitude plus marquée à se localiser sur le névraxe, afin d'y déterminer l'encéphalite parenchymateuse de la paralysie générale?

Si l'on accepte cette pluralité des variétés tréponémiques, on saisit mieux les raisons de certaines singularités cliniques et thérapeutiques de la syphilis cutanée, muqueuse et viscérale. Loin de nous l'idée d'écarter le facteur *terrain*, cet ensemble d'aptitudes acquises ou héréditaires, qui imprime aux tissus des particularités dans leur mode de réaction vis-à-vis d'une même souche microbienne. Ceci étant, notre conception rend compte pourquoi l'aspect des lésions primaires, secondaires et tertiaires varie d'un sujet à l'autre, et aussi les raisons de certains échecs thérapeutiques.

Invoquer exclusivement la *mercuro-* ou l'*arsénorésistance du germe*, pour expliquer ces échecs thérapeutiques, serait commettre une grave erreur. Nous l'avons prouvé, à l'occasion de nos recherches sur le tréponème neurotrope (1919), lequel, transmis au lapin, se montre sensible à l'action stérilisante de l'arsénobenzol, malgré l'inefficacité notoire du médicament dans la parasyphilis. Schwartz (1), dans sa thèse de 1921, partage la même opinion. Il relate l'observation d'un malade qui, malgré plusieurs séries de novarsénobenzol, fit des accidents récidivants, lesquels résistèrent à une nouvelle cure mercurielle et arsenicale. Le tréponème de ce malade fut transmis au lapin. Un animal contaminé fut soumis au traitement intraveineux par le même dérivé qui s'était montré inactif chez le sujet arsénorésistant. Les germes disparurent après la seconde injection et les lésions guérirent rapidement. Une seconde observation analogue nous a été communiquée par Fournier et Schwartz (résistance au *Stovarsol* ou 190).

Ainsi l'arsénorésistance du tréponème n'entre pas en ligne de compte, ou du moins elle ne paraît jouer qu'un rôle secondaire. D'après nous, comme d'après Fournier et Schwartz, deux facteurs interviennent pour expliquer l'insuccès de la théra-

(1) SCHWARTZ, L'abortion de la syphilis. *Thèse de Paris*, Picart, 1921.

peutique spécifique chez certains syphilitiques : *l'influence de l'organisme et les propriétés particulières de la variété tréponémique en jeu.*

a) INFLUENCE DE L'ORGANISME. — Les médicaments antisypilitiques, surtout ceux à structure complexe, tels les dérivés arsenicaux (1), n'exercent leur action parasiticide qu'après avoir subi des modifications profondes dans l'organisme. Nous l'avons démontré pour l'atoxyl, en collaboration avec Yamanouchi (2). Ce composé, inactif sur les trypanosomes, *in vitro*, devient fortement trypanocide dès qu'on le met en contact avec du tissu hépatique à 37° (formation de *Trypanotoxyl*). Dès lors, on conçoit que la transformation de ces composés en leurs dérivés microbicides soit fonction de la capacité élaboratrice de l'organisme, capacité qui varie d'un sujet à l'autre. Tel individu produira, aux dépens d'une même dose de médicament, et dans le même espace de temps, des quantités de dérivés actifs plus considérables qu'un autre sujet; l'efficacité du traitement sera donc plus grande chez le premier que chez le second.

b) INFLUENCE DES VARIÉTÉS TRÉPONÉMIQUES. — En outre, la thérapeutique spécifique peut échouer pour des raisons inhérentes au tréponème. Les constatations résumées au début de ce travail montrent qu'une souche de spirochètes plus virulente se laissera moins facilement influencer par un médicament, qui stérilisera en peu de temps une autre souche moins virulente qu'elle, toutes choses égales, d'ailleurs. Nous nous en sommes aperçu, lorsque nous avons suivi, chez le même sujet, l'évolution des syphilomes provoqués par les races FA et FB de Fournier et Schwartz, au cours du traitement bismuthique. La variété FB, la plus pathogène, tant pour l'homme que pour le lapin, a été stérilisée bien plus lentement que la variété FA, la moins virulente (planche I, fig. 1 à 6 et 7 à 11).

CONCLUSIONS. — Quoiqu'il en soit, les recherches résumées ci-dessus montrent que, *à l'exemple de certains microbes* (pneu-

(1) Des expériences faites en collaboration avec M. Nicolau nous ont montré qu'il en est de même des dérivés bismuthiques.

(2) LEVADITI et YAMANOUCHI. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1908, t. 65, p. 23. — LEVADITI et YAMANOUCHI. *Ces Annales*, 1909, 23, p. 604.

mocoque, méningocoque, streptocoque) et spirilles (*SPIROCHÆTA OBERMEYERI*), le *TREPONEMA PALLIDUM* dermatrope est un germe représenté dans la nature par de multiples variétés biologiquement et morphologiquement dissemblables (1).

## II. — Relations entre les diverses variétés de *Treponema pallidum*; leurs rapports avec le *Spirochæta cuniculi*.

Avant d'exposer nos expériences d'immunité croisée entreprises avec les différents virus en notre possession, nous désirons résumer nos recherches concernant la *Spirochétose spontanée du lapin*.

### A. Spirochétose spontanée du lapin (*Spirochæta cuniculi*; *Paralues cuniculi*, Jacobsthal).

L'existence, chez le lapin domestique, d'une maladie provoquée par un spirochète ressemblant au *Treponema pallidum*, et dont les lésions, localisées aux organes génitaux et parfois aux narines, se rapprochent de celles de la syphilis humaine, a été signalée par Arzt et Kerl en 1914, et étudiée par Schereschewsky, Klarenbeck et Jacobsthal. Ce dernier dénomme *Paralues cuniculi* cette spirochétose spontanée du lapin; aucune dissemblance morphologique ne peut être relevée entre ce germe et le tréponème de Schaudinn.

Nous avons étudié, en collaboration avec M. Isaïcu et Nicolau, la même maladie sur des animaux fournis à l'Institut Pasteur par divers éleveurs. Trois souches sont actuellement en notre possession :

*Lapin A*, mâle : porteur de lésions ulcéro-croûteuses des narines, contenant de nombreux spirochètes. Passage par scarification préputiale sur les lapins 69 et 70. Le premier contracte la maladie et montre des spirochètes

(1) Nous avons des raisons pour croire que la *vaccination active* contre la syphilis, au moyen d'un virus ayant subi de nombreux passages sur le lapin, n'est pas réalisable de sitôt. En effet, malgré son adaptation pendant de longues années, à l'organisme de cette espèce animale, le tréponème conserve une virulence telle, que son inoculation à l'homme n'est pas exempte de dangers, à moins que l'on arrête l'infection à la période de l'accident primaire, au moyen d'un traitement spécifique approprié, arsenical ou bismuthique. Mais, dans ce cas, aucune immunité n'apparaît; les nombreux cas de *réinfection syphilitique* en font preuve.

après cinquante jours, le second après quatre-vingt-six jours. Un troisième passage, sur le *lapin* 72, se montre positif, après une incubation de quatorze jours.

*Lapin B*, femelle : lésions exclusivement nasales. Un passage est pratiqué, par raclage de la muqueuse vaginale, sur le *lapin femelle* 30-M; résultat positif après vingt-cinq jours. Au même moment, nous prélevons du matériel spirochétien au niveau des narines chez la *lapine B*, et l'inoculons au vagin du même animal : apparition de papules riches en spirochètes, le vingt-deuxième jour.

*Lapin C*, femelle : lésions vaginales identiques à celles observées chez les animaux précédents.

Nos recherches ont porté sur le mode de transmission de la maladie, l'histologie des lésions, la virulence du *Spirochæta cuniculi* et la chimiothérapie.

1<sup>o</sup> HISTOLOGIE PATHOLOGIQUE. — Les altérations intéressent, à la fois, le revêtement épithélial et le derme. Les cellules épithéliales de la couche de Malpighi renferment des granulations basophiles; le protoplasma se vacuolise au voisinage du noyau, lequel est rétracté et entouré d'un espace clair. Au niveau de la couche germinative, on constate de nombreuses caryocinèses; d'ailleurs, tout le revêtement épithélial, surtout au niveau des narines, est le siège d'une prolifération intense. Des prolongements épithéliaux, plus ou moins ramifiés, pénètrent au loin dans le derme et le tout prend l'aspect de végétations papillomateuses. De nombreux polynucléaires s'infiltrèrent entre les cellules épithéliales; leur accumulation dans les espaces intercellulaires donne naissance à de petits abcès miliaires. Des lésions identiques aux précédentes existent au niveau des follicules pileux. Le bulbe pileux est grossi et les cellules germinatives disséquées par des polynucléaires; ces derniers envahissent la racine du poil et se dirigent vers la surface, entraînant avec eux des débris de cellules épithéliales.

Quant aux papilles dermiques, elles sont le siège d'une infiltration intense par des mononucléaires : rares macrophages, nombreux lymphocytes et cellules plasmatiques. Aucune disposition périvasculaire bien marquée. Les vaisseaux ne paraissent d'ailleurs pas altérés. Ces lésions infiltratives envahissent la couche musculaire.

Les spirochètes offrent une topographie toute particulière (imprégnation par la méthode Levaditi-Manouélian). On les décèle en plus grand nombre au niveau de la couche germinative de l'épiderme. Ici, toutes les cellules épithéliales sont comme enchâssées dans un épais feutrage de spirochètes; une quantité incalculable de parasites entourent la cellule de tous côtés et certains germes paraissent envahir le protoplasma cellulaire. Les spirochètes deviennent d'autant plus rares que l'on se rapproche de la surface. Tout se passe comme si la pullulation intense du microbe au niveau de la couche germi-



native exerçait sur elle une excitation néo-formative, aboutissant à la croissance papillomateuse de l'épiderme.

Les spirochètes se multiplient également dans les papilles dermiques; ils forment un réseau parasitaire dans les mailles duquel sont enclavées des cellules infiltratives : lymphocytes et éléments plasmatiques. Enfin, on les décèle entre les épithéliums des bulbes pileux, et aussi dans l'exsudat leucocytaire qui entoure la racine de certains poils; *ils s'éliminent au dehors le long de ces poils*.

*L'examen histologique des organes* ne montre que des lésions sans lien étiologique avec la maladie (infiltration péri-portale du foie, dilatation des sinus spléniques, riches en mononucléaires pigmentés). La méthode à l'argent ne révèle pas de spirochètes dans ces organes (cerveau, foie, rein, poumon, rate, cœur).

2° MODE DE TRANSMISSION. — La maladie peut être inoculée par scarification et dépôt de matériel infectieux au niveau des organes génitaux (cf. Schereschewsky et Klarenbeck). La transmission peut également avoir lieu par simple *contact sexuel*, à l'exemple de la contamination par voie sexuelle avec le (*Treponema pallidum* variété neurotrope), démontrée antérieurement par Levaditi, Marie et Banu (1), ainsi qu'il résulte de l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE : Le *lapin mâle* 69, porteur de lésions préputiales riches en tréponèmes, est accouplé avec la *lapine neuve* 59. La femelle met bas six petits, trente et un jours après. Elle montre des lésions vaginales spirochètiennes, le cinquante-deuxième jour.

Une expérience analogue a été publiée par Schereschewsky.

L'étude histologique nous a révélé des lésions infiltratives au niveau des follicules pileux (voir plus haut), ainsi que l'élimination du *Spirochæta cuniculi* vers la surface, le long des poils. Tout porte à croire que cette élimination du germe joue un rôle important dans la propagation de la maladie. En effet, *lors du contact sexuel, ou du simple contact entre animaux malades et lapins bien portants, le germe, s'éliminant par les*

(1) LEVADITI, MARIE et BANU. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1920, **170**, p. 1021.

*poils, contamine la peau saine, en pénétrant dans l'intimité des tissus le long de ces poils.*

3° VIRULENCE. — Le *Spirochæta cuniculi* est pathogène pour le lapin, animal constamment réceptif. Il engendre une maladie exclusivement locale, qui ne paraît pas influencer l'état général. Jusqu'à quel point l'infection peut agir sur la progéniture, c'est ce que nous avons montré dans un mémoire (1) paru récemment (2). Le germe n'est pathogène ni pour le rat blanc, ni pour la souris.

Etant donnée la ressemblance entre le *Treponema pallidum* et le *Spirochæta cuniculi*, il était intéressant de préciser la virulence de ce dernier pour l'homme, afin de déterminer : 1° si le contact de l'homme avec des lapins contaminés offre quelque danger ; 2° si, le cas échéant, le *Spirochæta cuniculi*, se comportant à l'égard du tréponème comme la vaccine vis-à-vis de la variole, ne provoquerait pas chez l'homme une infection atténuée, capable de conférer l'état réfractaire contre la syphilis.

#### Virulence pour l'homme et le singe (3)

(en collaboration avec M. Nicolau).

EXPÉRIENCE. — Le 18 mars 1921, deux d'entre nous (Levaditi et Nicolau) s'inoculent par scarification, à la surface externe du bras, du virus provenant d'un lapin infecté spontanément. Très nombreux spirochètes mobiles dans le produit inoculé. Réaction de Bordet-Wassermann négative avec le sérum, le jour même de l'inoculation. Les croûtes de sang coagulé qui couvrent les stries de scarification se détachent vers le cinquième jour. Depuis, aucune réaction, ni locale, ni générale. La réaction de Bordet-Wassermann reste négative.

En même temps que l'inoculation du virus à l'homme, on pratique une scarification infectante sur le *Macacus cynomolgus* n° 11 et sur le lapin 54. Le premier ne montre aucune lésion locale, tandis que le lapin présente, le treizième jour, des altérations caractéristiques du prépuce, riches en spirochètes.

Il en résulte que le *Spirochæta cuniculi* n'est ni virulent pour l'homme, ni pour les singes catarrhiniens inférieurs (4). Etant donné que son inoculation à l'homme n'a été suivie d'aucune

(1) Cf. LEVADITI, MARIE et ISAÏU. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1921, 85, p. 342.

(2) LEVADITI et MARIE, *Archives internat. de Neurologie*, 1922, 42, p. 1.

(3) LEVADITI, MARIE et NICOLAU. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1921, 172, p. 1542.

(4) Schereschewsky, de même que Arzt et Kerl. ont inoculé, sans succès, des singes catarrhiniens.

réaction locale, si minime fût-elle, et qu'elle n'a modifié en aucune façon les propriétés humorales (absence de réaction de Bordet-Wassermann, même faiblement positive), nous avons considéré inopportun de rechercher si les sujets humains inoculés étaient vaccinés contre le *Treponema pallidum*. Le contraire est plus que vraisemblable.

*Le spirochète de la spirochétose spontanée du lapin (SPIROCHÆTA CUNICULI) n'est donc pas pathogène pour l'homme.*

4° CHIMIOTHÉRAPIE. — Ainsi que l'un de nous l'a montré, en collaboration avec Sazerac (1), la spirochétose du lapin guérit définitivement, lorsqu'on lui administre du tartrobismuthate de potassium et de sodium, en injection intramusculaire (2). Même résultat avec le traitement par le novarsenobenzol (inoculation intraveineuse).

CONCLUSIONS. — La spirochétose spontanée du lapin, provoquée par le *Spirochæta cuniculi*, est une maladie exclusivement locale, sans retentissement général appréciable et qui se transmet par contact direct (sexuel ou autre). Les follicules pileux paraissent jouer un rôle important dans la propagation de l'infection. Le *Spirochæta cuniculi* n'est pas virulent pour l'homme.

#### B. — Relations entre les variétés de tréponème dermatrope et neurotrope.

Nous avons résumé, dans notre premier Mémoire, les nombreux arguments qui plaident en faveur de l'existence de différences profondes entre les deux variétés *dermatrope* et *neurotrope* du *Treponema pallidum*. Rappelons-les succinctement :

Les deux variétés se distinguent :

1° Par la durée de l'incubation, de beaucoup plus longue pour le tréponème neurotrope ;

2° Par les caractères des lésions que les deux germes provoquent chez le lapin : chancre induré avec le spirochète de la

(1) SAZERAC et LEVADITI *C. R. de l'Acad. des Sc.*, séance du 29 mai 1921.

(2) KLARENBECK a confirmé cette constatation. *Tijdschrift voor die geneeskunde*, 49, n° 12.

syphilis habituelle, lésions papulo-squameuses avec le germe neurotrope;

3° Par les détails microscopiques de ces lésions : affinité épithéliale marquée pour le germe neurotrope, altérations vasculaires et sclérogènes, de beaucoup plus accentuées, avec le virus dermatrope;

4° Par l'évolution des papulo-squames dues à la pullulation du spirochète de la paralysie générale, chez le lapin : évolution lente, guérison spontanée tardive, récurrence au bout d'un temps parfois très long;

5° Par le pouvoir pathogène de ces germes : virulence marquée du tréponème dermatrope pour les singes inférieurs, les simiens anthropoïdes et l'homme; pouvoir pathogène nul, par inoculation cutanée, du spirochète de la parasymphilis (mêmes espèces animales);

6° Enfin, par le fait que les animaux guéris des lésions provoquées par l'un des tréponèmes, et ayant acquis l'immunité à l'égard de cette variété, continuent, dans la généralité des cas, à être réceptifs vis-à-vis l'autre variété de spirochète.

En possession de nouvelles souches de tréponème neurotrope [dont nous avons décrit les caractères dans une note présentée en 1919 à l'*Académie des Sciences* (1)], nous avons entrepris la vérification des données résumées ci-dessus.

Nos nouveaux essais ont confirmé les anciens, avec cette différence que les souches plus récentes étaient légèrement dissemblables, en ce sens que les lésions qu'elles provoquaient, chez le lapin, étaient localisées de préférence au prépuce et à la région péri-anale. Nous nous dispensons d'entrer dans les détails de ces expériences; nous ne relaterons que celles qui se rapportent à la virulence pour l'homme et à l'immunité croisée.

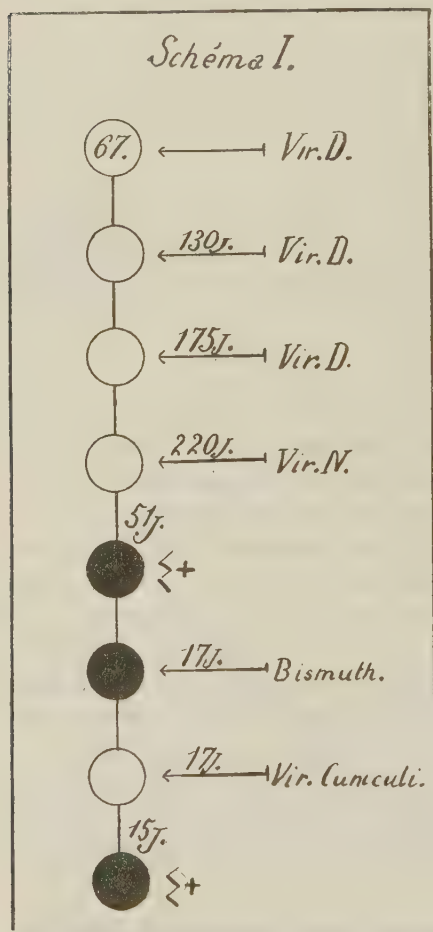
1° VIRULENCE POUR L'HOMME. — Nous avons montré antérieurement (1914-1919) que si le germe neurotrope est dépourvu de virulence pour l'homme et pour le singe (inoculation cutanée), par contre, la variété dermatrope conserve son pouvoir pathogène pour l'espèce humaine, malgré des passages réitérés sur le lapin. Or, les nouvelles infections résumées plus haut

(1) LEVADITI, MARIE et BANU *Loc. cit.*



(voy. page 197) confirment ces différences entre les deux variétés tréponémiques.

2° IMMUNITÉ CROISÉE. — On sait, qu'en général, après



LÉGENDE DES SCHÉMAS. — Blanc : inoculation négative ; Noir : inoculation positive ; Virus D : virus dermatrope ; Virus N : virus neurotrope ; Virus cuniculi : virus de la spirochétose spontanée.

la variété neurotrope, ainsi qu'il résulte des expériences suivantes :

la guérison spontanée ou médicamenteuse de la syphilis expérimentale (singe et lapin), l'organisme acquiert un état réfractaire plus ou moins durable. Les expériences résumées ci-dessous en fournissent la preuve :

EXPÉRIENCE I. — Le lapin 72/B est infecté avec du virus neurotrope (scarification préputiale). Apparition des lésions après une incubation de soixante-deux jours. A ce moment, traitement intramusculaire par le tartrobismuthate de sodium et de potassium. Guérison le deuxième jour. Quatorze jours après, nouvelle inoculation préputiale avec la même souche de virus neurotrope. Aucune lésion, état réfractaire. Un lapin témoin, inoculé au même moment, contracte la maladie.

*Une première infection par la variété neurotrope, guérie à la suite du traitement bismuthique, confère l'immunité à l'égard d'une seconde inoculation homologue.*

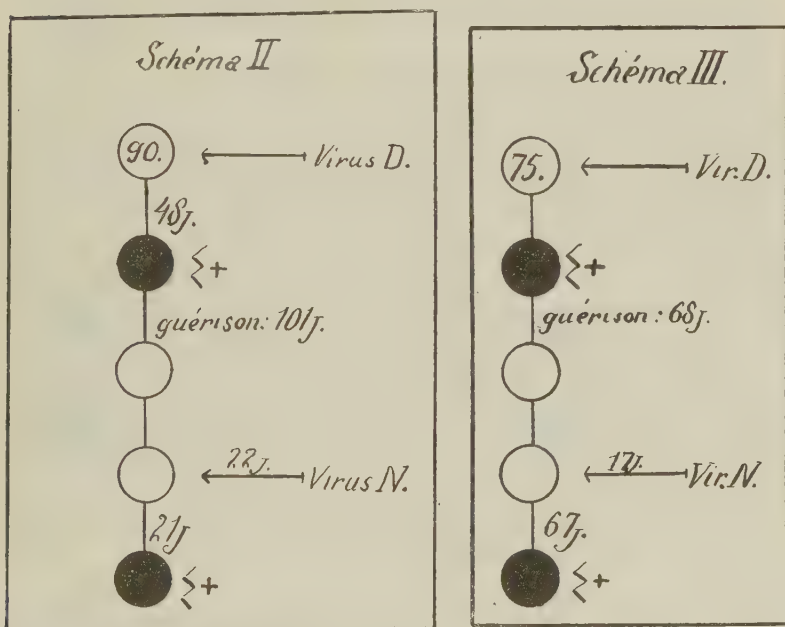
Par contre, il n'y a pas d'immunité croisée entre le germe dermatrope et

EXPÉRIENCE II. — Un lapin, normalement réfractaire au virus dermatrope, contracte l'infection par le germe neurotrope.

Le lapin 67/Ac est inoculé par greffe scrotale, avec du virus dermatrope souche R; il ne réagit pas. Nouvelles inoculations avec le même virus, cent trente jours et cent soixante-quinze jours après : même résultat négatif. Deux cent vingt jours après la première inoculation, scarification préputiale avec le germe neurotrope : lésions spirochéliennes après une incubation de cinquante et un jours (schéma 1).

EXPÉRIENCE III. — Un lapin guéri de lésions à virus dermatrope contracte l'infection par le germe neurotrope.

a) Le lapin 90 est infecté, par greffe scrotale, avec du virus dermatrope



(souche R). Résultat positif, après une incubation de quarante-huit jours. Guérison cent un jours après. Vingt-deux jours après la guérison, inoculation de virus neurotrope; lésions spirochéliennes après une incubation de vingt et un jours (schéma 2).

b) Le lapin 75/L est inoculé, en même temps que le précédent, avec le même virus dermatrope. Guérison spontanée de la lésion le soixante-huitième jour. Dix-sept jours après la guérison, inoculation de virus neurotrope: lésions spirochéliennes après une incubation de soixante-sept jours (schéma 3).

L'ensemble de ces recherches montre que, conformément à nos constatations antérieures, la variété dermatrope du *TREPONEMA PALLIDUM* diffère de la variété neurotrope par sa virulence,

et aussi par le fait que la première de ces variétés ne vaccine pas contre la seconde.

La *parasymphilis* semble bien être provoquée par une variété spirochétienne différente de celle qui engendre la syphilis habituelle, cutanée, muqueuse et viscérale.

#### C. — Relations entre la variété dermatrope et le *Spirochæta cuniculi*.

Nos recherches ont porté sur la virulence et sur l'immunité croisée.

Remarquons d'abord qu'aucune ressemblance n'existe entre les lésions provoquées, chez le lapin, par ces deux variétés de spirochètes. En effet, le virus dermatrope détermine des syphilomes indurés, ulcérés, à structure histologique particulière, où prédominent les réactions périvasculaires, infiltratives et sclérogènes. Rien de tout cela chez les animaux atteints de spirochètose spontanée. Le *Spirochæta cuniculi* offre une affinité épithéliale marquée et provoque des altérations superficielles ayant, pour siège, les muqueuses génitales et certaines zones épidémiques. De plus, nous n'avons jamais réussi à provoquer une véritable orchite avec cette variété spirochétienne, contrairement à ce qui a lieu avec le tréponème dermatrope (1).

A ces différences s'ajoutent les résultats fournis par l'étude de la virulence et de l'immunité croisée.

1° VIRULENCE. — Il résulte des expériences relatées ci-dessus (voyez page 191) que le virus dermatrope est pathogène pour l'homme et le singe, tandis que le *Spirochæta cuniculi* se montre avirulent pour ces espèces. Des différences fondamentales existent donc, à ce point de vue, entre les deux variétés spirochètiennes.

2° IMMUNITÉ CROISÉE. — a) *Un lapin, normalement réfractaire au virus dermatrope, contracte l'infection par le SPIROCHÆTA CUNICULI.*

(1) Klarenbeck a obtenu cependant des résultats positifs.

EXPÉRIENCE I. — Le lapin 94/B est inoculé, par greffe scrotale, avec le virus dermatrope F; résultat négatif. Quarante-deux jours après, il est scarifié au prépuce et infecté avec le *Spirochæta cuniculi*. Lésions spirochéliennes vingt-sept jours après (schéma 4).

EXPÉRIENCE II. — Le lapin 19/M est

Schéma IV.

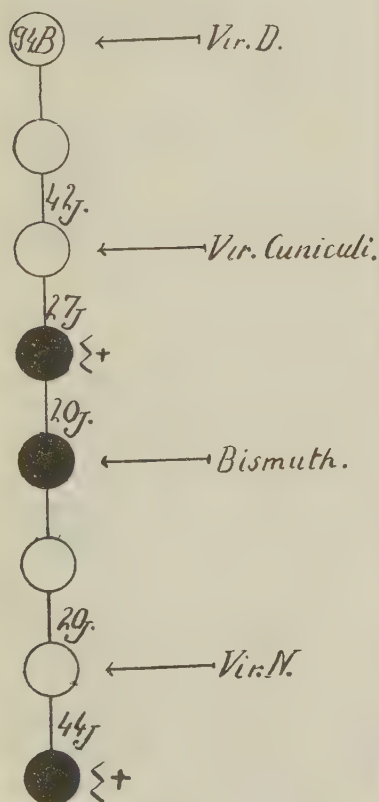
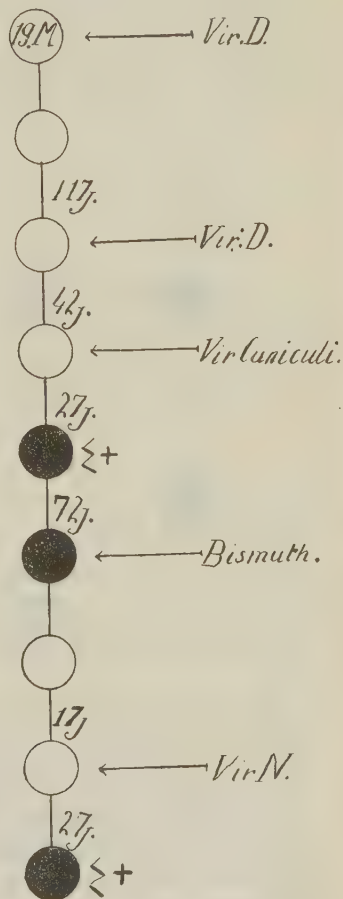


Schéma V.



inoculé, par le même procédé, avec le virus dermatrope F; résultat négatif. Nouvelle inoculation avec le même virus, cent dix-sept jours après; même résultat négatif. Quarante-deux jours après, scarification préputiale avec le virus cuniculi: lésions tréponémiques le vingt-septième jour (schéma 5).

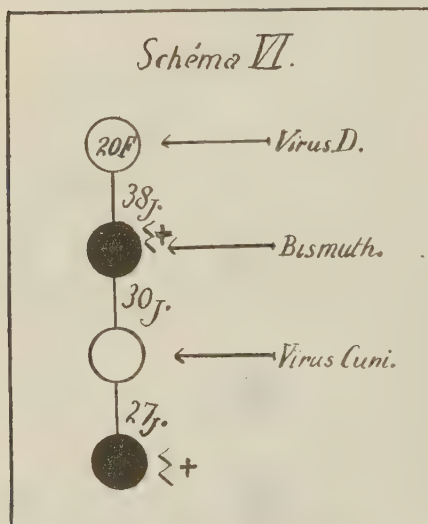
b) Un lapin, guéri de lésions à virus dermatrope, se montre réceptif à l'égard du SPIROCHÆTA CUNICULI.



EXPÉRIENCE I. — Le lapin 20-F est infecté, par greffe scrotale, avec du *virus dermatrope*. Lésions spirochéliennes, après une incubation de trente-huit jours. Guéri par une injection de sel bismuthique. Trente jours après la guérison, scarification préputiale et infection avec le *Spirochæta cuniculi* : résultat positif, après une incubation de vingt-sept jours (schéma 6).

EXPÉRIENCE II. — Le lapin 93-B est infecté, par le même procédé, avec du *virus dermatrope* : résultat positif, après une incubation de vingt-huit jours. Guérison spontanée le quarante-huitième jour. Trente-neuf jours après la

guérison, nouvelle infection par scarification préputiale, avec le *Spirochæta cuniculi* : résultat positif, après une incubation de vingt-sept jours (schéma 7).



c) Un lapin guéri de lésions à *SPIROCHÆTA CUNICULI* se montre réceptif vis-à-vis de la variété dermatrope.

EXPÉRIENCE. — Le lapin 64-B est infecté avec le *Spirochæta cuniculi*; résultat positif après une incubation de vingt-sept jours. Traitement par le Trépol; guérison quarante-neuf jours après; vingt-huit jours après la cicatrisation des lésions

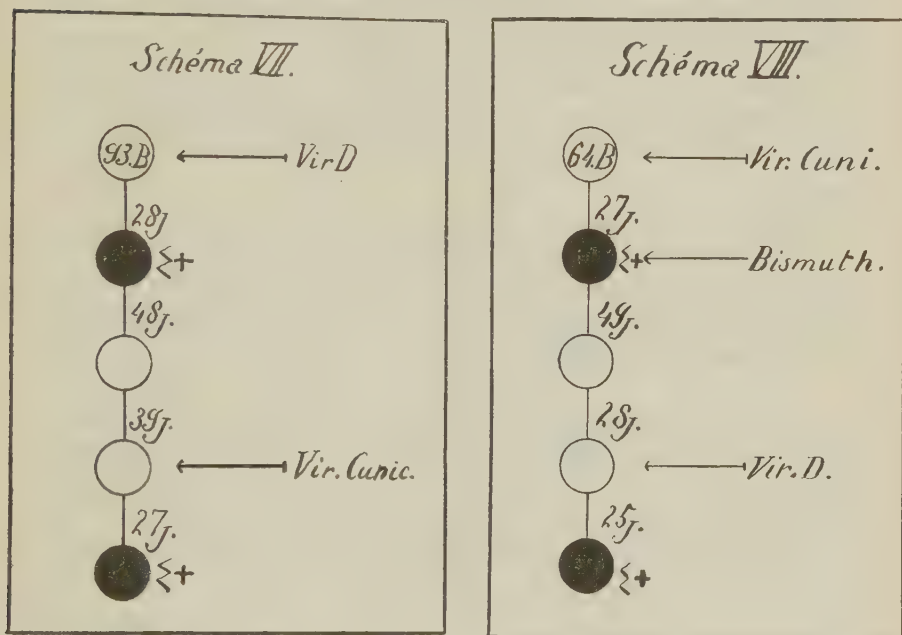
préputiales, nouvelle inoculation, par greffe scrotale, avec du *virus dermatrope* : succès, après une incubation de vingt-cinq jours (schéma 8).

Il résulte de l'ensemble de ces constatations (1) que la variété dermatrope et le *Spirochæta cuniculi* sont des germes totalement différents. La maladie spontanée du lapin n'a rien de commun avec le chancre provoqué, chez cette espèce animale, par l'inoculation scrotale de produits syphilitiques (syphilis primaire ou secondaire). Il s'ensuit que les déductions tirées de l'étude expérimentale de la syphilis dermatrope sont exactes, à condition, toutefois, que des précautions aient été prises afin d'éviter la contamination spontanée par le *SPIROCHÆTA CUNICULI*.

(1) ARZT (*loc. cit.*), ainsi que Jacobsthal relatent des expériences analogues, montrant que le *Sp. cuniculi* ne vaccine pas l'animal contre le tréponème dermatrope.

D. — Relations entre la variété neurotrope  
et le *Spirochæta cuniculi*.

Quel que soit le point de vue où l'on se place, le *virus dermatrope* et le *Spirochæta cuniculi* nous apparaissent comme deux germes profondément dissemblables. Il n'en est pas de



même, lorsqu'on examine, de prime abord, le virus de la spirochétose spontanée du lapin et la variété neurotrope du *Treponema pallidum*. Ce n'est qu'en approfondissant les caractères biologiques de ces microbes qu'on saisit l'écart qui les sépare. Considérons, successivement, l'aspect des lésions, la virulence et les résultats fournis par les expériences d'immunité croisée.

1° ASPECT DES LÉSIONS. — Les lésions déterminées chez le lapin par les deux germes offrent presque le même aspect. Notre première souche (1913) ne provoquait que des papules squameuses scrotales, sans localisations préputiales ou anales. Les souches plus récentes (1919) se comportaient comme le

virus de Graves (1) (paralysie générale); les altérations s'étendaient au prépuce et à l'anus, se rapprochant ainsi des érosions de la spirochétose du lapin. Toutefois, les détails histopathologiques laissent voir des différences appréciables. Les manifestations engendrées par le *Spirochæta cuniculi*, tout en intéressant les couches épidermiques superficielles, envahissent plus profondément le derme que les lésions similaires de la variété neurotrope. Les manifestations périvasculaires et infiltratives sont sensiblement plus marquées.

Certes, ces écarts sont peu marqués et frappent moins que les différences relevées entre les variétés dermatrope et neurotrope. Ils sont toutefois assez apparents pour entrer en ligne de compte.

2° VIRULENCE. — La virulence des deux variétés spirochètiennes est la même, tant pour l'homme que pour l'animal : aucune différence n'a pu être relevée, à ce point de vue, entre le tréponème neurotrope et le *Spirochæta cuniculi*.

3° IMMUNITÉ CROISÉE. — Malgré cette parenté étroite, certaines expériences d'immunité croisée ont fourni des résultats qui établissent une distinction nette entre le spirochète neurotrope et le germe de la maladie spontanée du lapin. Les voici :

1° *Un lapin guéri de lésions provoquées par le virus neurotrope n'est pas réfractaire au SPIROCHÆTA CUNICULI.*

EXPÉRIENCE I. — Le lapin 76-Ac (expérience II, p. 209 et schéma 1) est inoculé avec du *virus neurotrope*; résultat positif, après une incubation de cinquante et un jours; dix-sept jours après l'apparition des lésions préputiales, l'animal est traité par le Trépol (injection intramusculaire). Guérison le troisième jour. Dix-sept jours après la cicatrisation, nouvelle scarification préputiale avec le *Spirochæta cuniculi* : lésions spirochètiennes le quinzième jour.

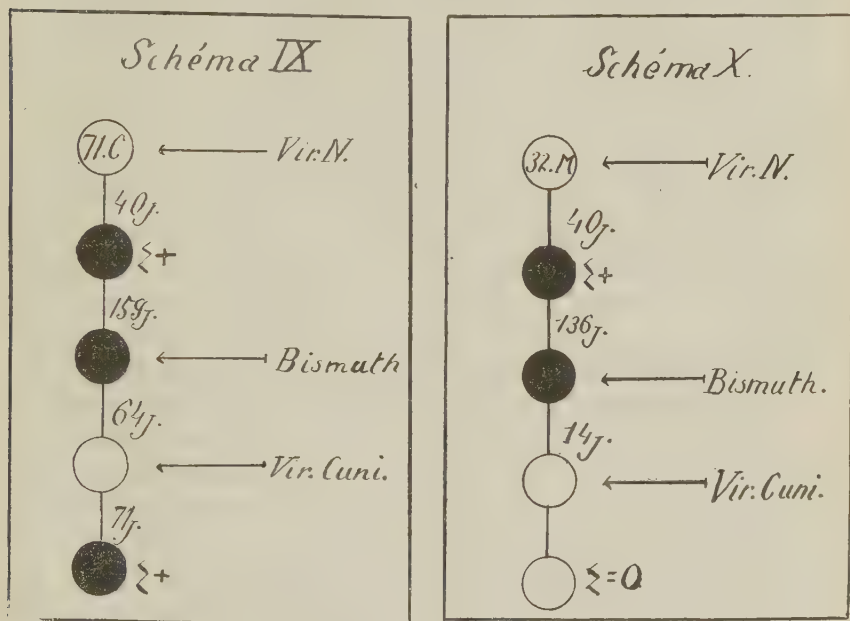
EXPÉRIENCE II. — Le lapin 71-C est inoculé avec du *virus neurotrope* (prépuce) : lésions spirochètiennes quarante jours après. Cent cinquante-neuf jours après, traitement intramusculaire par du tartrobismuthate de sodium et de potassium : guérison. Soixante-quatre jours après la cicatrisation, nouvelle scarification préputiale avec le *Spirochæta cuniculi* : résultat positif le soixante et onzième jour (schéma 9).

(1) GRAVES. *Interstates med. Journ.*, 1913, 20, n° 6; *The Journ. of. the Amer. med. Assoc.*, 1913, 61, p. 1504.

2° Un lapin guéri de la spirochétose spontanée n'est pas réfractaire à une seconde inoculation, avec du virus neurotrope.

EXPÉRIENCE I (expérience I, p. 211, schéma 4). — Le lapin 94-B est inoculé avec du *virus cuniculi* (prépuce); belle lésion préputiale après une incubation de vingt-sept jours. Vingt jours après l'apparition des accidents, traitement au *Trépol*. Guérison le deuxième jour. Vingt jours après la cicatrisation, deuxième inoculation avec du *virus neurotrope*: altérations préputiales riches en spirochètes le quarante-quatrième jour.

EXPÉRIENCE II (expérience II, p. 211, schéma 5). — Le lapin 19-M est inoculé, par scarification du prépuce, avec le *Spirochæta cuniculi*: manifestation locale



spirochétienne le vingt-septième jour. Soixante-douze jours après, traitement au *Trépol*. Guérison. Dix-sept jours après la cicatrisation, nouvelle inoculation avec du *tréponème neurotrope*: résultat positif, après une incubation de vingt-sept jours.

Ces expériences prouvent qu'en général, il n'y a pas d'immunité croisée entre le *tréponème neurotrope* et le *SPIROCHÆTA CUNICULI*.

Toutefois, dans un de nos essais, l'un des virus a vacciné contre l'autre, ainsi qu'il résulte du protocole suivant :

EXPÉRIENCE. — Le lapin 32-M est inoculé avec du *virus neurotrope* au prépuce: lésion spirochétienne le quarantième jour. Cent trente-six jours après,



traitement au tartrobismuthate de sodium et de potassium : guérison. Quatorze jours après la cicatrisation, nouvelle infection avec le *Spirochæta cuniculi* : résultat négatif pendant plus de trente jours (schéma 10).

\*  
\* \*

L'ensemble de ces constatations montre que, dans la majorité des cas, il n'existe pas d'immunité croisée entre le tréponème neurotrope et le *Spirochæta cuniculi*. Or, ceci ne devrait pas avoir lieu, si les deux variétés spirochètiennes étaient identiques. Des caractères biologiques les séparent l'une de l'autre. L'écart entre les deux parasites est cependant moins profond qu'entre eux et le germe dermatrope, comme s'ils étaient plus adaptés à l'organisme du lapin que ce dernier germe.

Ainsi, l'existence de la spirochètose spontanée du lapin, qui, suivant certains auteurs [Plaut et Mulzer (1), en particulier], devait réduire à néant les conclusions déduites de l'étude expérimentale de la maladie de Bayle, ne change en rien ces conclusions, au contraire. D'ailleurs, tout en ignorant, à cette époque, l'existence du *Spirochæta cuniculi*, nous avons eu soin d'examiner fréquemment et régulièrement nos animaux, au cours de la période d'incubation. S'il s'était agi, non pas d'une infection à tréponème neurotrope d'origine humaine (sang de paralytiques généraux), mais de la maladie spontanée, nous aurions dû voir apparaître des lésions peu de temps après l'inoculation. Or, l'incubation fut, au contraire, de très longue durée (127, 76 et 70 jours). Dans ces conditions, il nous semble difficile d'admettre qu'une infection latente à *Spirochæta cuniculi* ait mis si longtemps à se déclarer. De plus, nous n'avons jamais observé la maladie spontanée chez les animaux inoculés avec le virus dermatrope; cette maladie ne semble donc pas compliquer, aussi souvent qu'on le pense, la transmission expérimentale de la syphilis humaine au lapin.

*La découverte du SPIROCHÆTA CUNICULI n'a pas modifié notre conception première sur la dualité du virus syphilitique et le neurotropisme du TREPONEMA PALLIDUM. Au contraire, cette découverte, en incitant de nouvelles recherches, a élargi notre ma-*

(1) PLAUT et MULZER. *Münch. med. Woch.*, 1922, n° 14, p. 496.

*nière de voir, en montrant que des spirochètes, identiques au point de vue morphologique, peuvent jouir de propriétés biologiques dissemblables.*

\*  
\* \*

Parmi les contradicteurs de l'hypothèse du neurotropisme, nous citerons MM. Sicard, Sézary, Marchand, Plaut et Mulzer. Ces savants formulent des objections à notre manière d'envisager l'étiologie et la pathogénie de la parasymphilie et proposent de nouvelles théories. Examinons les unes et les autres.

Nous avons réfuté, dans un article paru dans *La Presse Médicale* (1), les arguments sur lesquels s'appuie M. Sicard pour mettre en doute l'existence du virus neurotrope; nous n'y reviendrons pas. Le travail, plus récent, de M. Sézary (2), mérite que l'on s'y arrête plus longuement.

M. Sézary, tout en reconnaissant l'exactitude de nos observations, ne souscrit pas à nos conclusions. D'après lui, « le neurotropisme ne rend compte ni des particularités des lésions histologiques (paralysie générale et tabes), surtout si on les oppose aux altérations gommeuses des méninges ou des artères cérébrales, ni de la résistance au traitement ».

Que l'affinité du tréponème neurotrope pour le névraxe n'explique pas les caractères particuliers des altérations parenchymateuses de la maladie de Bayle, personne ne le conteste. Mais le neurotropisme rend compte de la localisation du germe dans le parenchyme de l'encéphale, parenchyme qui réagit autrement que les tissus mésodermiques du névraxe. La fixation du spirochète sur les centres nerveux est déterminée par les propriétés innées, ou progressivement acquises, du microbe, tandis que les particularités des lésions parasymphilitiques sont sous la dépendance des caractères réactionnels propres des neurones. La preuve est que certaines des lésions de la paralysie générale se retrouvent dans des infections provoquées par des germes différents du tréponème, tel le trypanosome de la maladie du sommeil ou les virus filtrants de l'encéphalite épidémique et de l'herpès encéphalitique.

(1) LEVADITI et MARIE. *La Presse Médicale*, 1920, n° 66, p. 646.

(2) SÉZARY. *Revue neurologique*, 1921, 28, n° 4, p. 337.

Reste l'*inefficacité du traitement spécifique*. Nous avons été les premiers à soutenir que cette inefficacité n'est pas attribuable à l'arséno ou à la mercurorésistance acquise du tréponème neurotrope (1), mais à sa localisation organotrope. C'est l'encéphale qui élabore mal le médicament et met le parasite à l'abri des dérivés tréponémicides résultant de la transformation tissulaire de ce médicament [(voy. p. 201 (2))]. Le neurotropisme explique les raisons pour lesquelles le spirochète, logé dans le névraxe, se place ainsi hors de l'action stérilisante que la médication antisypilitique exerce sur des parasites fixés partout ailleurs que dans le cerveau. Ainsi, on ne saisit pas pour quelles raisons des objections si facilement réfutables incitent M. Sézary à rejeter, comme mal fondée, l'hypothèse du neurotropisme.

L'auteur propose une autre théorie, basée sur l'existence des *anticorps spirillicides*. La voici, en quelques mots : pendant la période secondaire, le tréponème, charrié par le torrent circulatoire, s'arrête dans les divers organes, y compris le névraxe. Il se fixe sur le système nerveux « avec plus ou moins d'électivité, selon les prédispositions héréditaires ou acquises ». Les parasites demeurent dans les centres nerveux pendant longtemps et finissent par y déterminer des « réactions parenchymateuses latentes, qui ne peuvent pas guérir par la « seule action de l'immunité naturelle du système nerveux ». « Mais, peu à peu, par un phénomène d'adaptation, dont la « microbiologie nous offre de nombreux exemples, les tréponèmes s'acclimatent, puis pullulent. La vitalité augmente « et le tissu nerveux les met à l'abri des médicaments « spirillicides. Cependant, ils acquièrent les propriétés « spéciales que Levaditi, Marie et Danulesco, qui les ont « mises en évidence, interprètent comme caractéristiques du « neurotropisme ».

D'après M. Sézary, les caractères spécifiques des lésions tertiaires (gommès) sont dus à l'action des anticorps, qui modifient la réaction tissulaire dans un sens déterminé. Si le *spirochète ne produit pas de telles lésions tertiaires dans l'encéphale des*

(1) LEVADITI et MARIE. Ces *Annales*, 1919, 33, p. 741.

(2) Il est probable que le névraxe altéré des paralytiques généraux élabore moins bien que le cerveau de sujets normaux les dérivés à structure complexe. Nous nous proposons d'examiner la question expérimentalement.

*paralytiques généraux, mais des altérations totalement différentes (méningo-encéphalite parenchymateuse), c'est que le cerveau est incapable d'engendrer ces anticorps microbicides.* De plus, « le système nerveux, en raison de sa constitution chimique, ou de son puissant pouvoir réducteur, échappe à l'action des substances immunisantes qui se trouvent dans l'organisme auquel il appartient ». M. Sézary invoque, en faveur de cette thèse, les expériences de Roux et Borrel, de Vincent, de Phisalix, etc..., montrant que l'encéphale ne participe pas à l'immunité antitoxique générale (innée ou acquise).

La partie véritablement neuve de cette théorie est celle qui se rapporte aux relations entre l'incapacité du névraxe à prendre part à l'état réfractaire dont jouit l'organisme, et les caractères particuliers des lésions cérébrales parasymphilitiques. Le reste n'est qu'une reproduction plus ou moins fidèle de ce que nous avons avancé antérieurement. En effet, l'adaptation progressive du tréponème au système nerveux, aboutissant à la création de variétés neurotropes, découle de notre hypothèse. Dès le début, nous avons admis que des spirochètes à tendance neurotrope, à force de vivre au contact des neurones, deviennent de plus en plus aptes à se localiser sur le névraxe. Ils acquièrent ainsi des propriétés biologiques nouvelles, pouvant être mises en relief expérimentalement. Et il en est de même du mécanisme qui préside à l'insuccès de la thérapeutique spécifique appliquée dans la paralysie générale avancée.

La partie vraiment originale de la théorie de M. Sézary s'appuie, comme nous l'avons déjà dit, sur l'existence d'anticorps spirillicides, et aussi sur la place que semble occuper le système nerveux dans le processus de l'immunité acquise. Or, rien n'est moins prouvé que cette intervention des anticorps microbicides dans la syphilis. Aucune expérience ne démontre leur réalité; leur existence est plus que problématique. Chaque fois qu'on les a recherchés, soit dans le sang, soit dans le liquide céphalo-rachidien (Levaditi et Yamanouchi), on n'a enregistré que des échecs. De plus, il est certain actuellement, que les substances qui interviennent dans la réaction de Bordet-Wassermann n'ont aucun rapport avec ces anticorps.

Quant à l'affirmation d'après laquelle le névraxe ne participe pas à l'état réfractaire général, elle n'est vraie qu'en ce qui con-



cerne l'immunité antitoxique. Il en est tout autrement dans l'immunité active proprement dite. En effet, les recherches récentes de Doerr et Schnabel (1), de Levaditi, Harvier et Nicolau (2), montrent que les ultravirus des ectodermoses neurotropes (*herpès*, *encéphalite*, *neurovaccine*) déterminent un état réfractaire solide du cerveau. Cette immunité est, d'après Levaditi et Nicolau, d'ordre purement local, en ce sens que l'encéphale se vaccine pour son propre compte, tout en participant à l'immunité générale de l'organisme. Il détruit le virus avec une rapidité étonnante, par des moyens qui lui sont propres. Dans la vaccine, comme dans l'herpès ou dans l'encéphalite, l'immunité de la cornée ou de la peau entraîne celle du cerveau. On ne voit pas pourquoi il en serait différemment dans la syphilis.

Ces considérations suffisent pour montrer que l'hypothèse de M. Sézary ne saurait être acceptée sans réserves, surtout en ce qu'elle comporte de véritablement nouveau.

\*  
\* \*

M. Marchand (3) remarque que les divergences d'idées, en ce qui concerne l'étiologie et la pathogénie de la paralysie générale, « surviennent dès qu'il s'agit d'expliquer l'inefficacité du traitement spécifique de cette affection ». Il passe en revue les diverses hypothèses émises pour expliquer cette inefficacité ; aucune ne lui donne satisfaction, pas plus celle du neurotropisme que les autres (Sicard, Sézary, Mott, Massary, Ravaut). Les raisons doivent être recherchées ailleurs. Elles résident, d'après M. Marchand, dans la manière erronée dont on conçoit actuellement l'étiologie de la parasyphilis. Les preuves que l'on invoque en faveur de l'origine syphilitique de la paralysie générale sont incomplètes, discutables, qu'il s'agisse de la présence du tréponème dans l'encéphale, ou des résultats fournis par la réaction de Bordet-Wassermann, peu importe. « On « en arrive à se demander, dit M. Marchand, si la paralysie

(1) DOERR et SCHNABEL. *Schweizerische med. Woch.*, 1921, n° 24.

(2) LEVADITI, HARVIER et NICOLAU. *Ces Annales*, 1922, 36, nos 1 et 2 ; *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1922, 86, p. 233.

(3) MARCHAND. *La Presse Médicale*, 1921, n° 70, p. 695.

« générale, qui survient surtout chez les syphilitiques, n'est  
« pas due à un agent infectieux autre que le tréponème, et si  
« ce dernier, dont la présence est souvent constatée dans le  
« cerveau des paralytiques généraux, ne s'y trouve pas comme  
« microbe secondaire, comme microbe associé. » Le véritable  
agent pathogène serait, d'après M. Marchand, « *probablement*  
« *un virus filtrant et invisible* », sur lequel la médication anti-  
syphilitique serait sans effet.

Peut-on discuter actuellement la présence, pour ainsi dire constante, du spirochète dans le parenchyme cérébral des sujets atteints de la maladie de Bayle? Nous ne le pensons pas. Les résultats négatifs enregistrés par M. Marchand, dans le trop petit nombre de cas examinés par lui, contrastent avec les observations édifiantes des auteurs qui ont étudié la question plus à fond (1). Quant à la réaction de Bordet-Wassermann, il n'est pas de manifestations syphilitiques où elle fournisse des renseignements aussi nets et aussi utiles que dans la paralysie générale, à toutes ses périodes. Reste le virus filtrant et invisible de M. Marchand. Certes, les exemples ne manquent pas montrant que des ultravirus spécifiques, agents pathogènes de certaines infections, furent masqués par des microbes cultivables, n'ayant aucun rapport étiologique avec ces maladies. Mais, dans ces cas particuliers, le problème n'a été élucidé qu'après la découverte de ces ultravirus. Nous souhaitons qu'il en soit de même du germe filtrant et invisible de M. Marchand; en attendant, nous restons partisans de la nature syphilitique de la paralysie générale.

\*  
\* \*

Plaut et Mulzer (2) essaient de transmettre le tréponème de la paralysie générale au lapin, en inoculant du sang et du liquide céphalo-rachidien, par voie intracardiaque, intraveineuse, intratesticulaire, et aussi en injectant, dans le testicule, de l'écorce cérébrale riche en spirochètes. Ils échouent dans

(1) Le pourcentage des résultats positifs est de 28 p. 100 d'après Noguchi; 50 p. 100 d'après Jahnke et Sioli; 70 p. 100 d'après Pulcher; 90 p. 100 d'après Levaditi, Marie et Bankowsky; plus de 90 p. 100 d'après Valente.

(2) PLAUT et MULZER. *Müsch. med. Woch.*, 1922, n° 14, p. 496.

tous les cas de parasyphilis proprement dite et n'obtiennent qu'un seul résultat positif, avec des matériaux provenant d'un sujet chez lequel la maladie de Bayle s'était compliquée d'endartérite syphilitique. Ces insuccès (à rapprocher de ceux enregistrés par Valente) les font douter de l'exactitude de nos expériences; les auteurs se demandent si le tréponème neurotrope étudié par nous ne serait autre que le *Spirochæta cuniculi* de la maladie spontanée du lapin.

Nous avons montré plus haut (p. 210) ce qu'il en est de cette objection; nous n'y reviendrons pas. Mais nous constaterons, non sans quelque satisfaction, que malgré les réserves formulées, Plaut et Mulzer sont forcés d'aboutir aux mêmes conclusions que nous. En effet, les savants allemands inoculent à des lapins l'écorce cérébrale de deux paralytiques généraux et constatent, chez quelques animaux, une pléiocytose manifeste du liquide céphalo-rachidien. « Nous avons réussi, disent-ils, à transmettre la syphilis au lapin en injectant des produits de paralytiques généraux. Cette syphilis peut être inoculée à d'autres animaux neufs, chez lesquels elle provoque des modifications du liquide cérébro-spinal. Il y a donc lieu de penser que les inoculations positives réalisées avec l'écorce cérébrale des paralytiques généraux ne déterminent, chez le lapin, que des altérations de ce liquide. *Ce serait là une preuve en faveur des propriétés biologiques particulières du tréponème des paralytiques généraux.* » Il ressort de là que Plaut et Mulzer attribuent à ce tréponème des qualités qui lui appartiennent en propre, caractères sur lesquels nous avons attiré l'attention en 1914, et qui nous ont conduit à formuler l'hypothèse du neurotropisme.

\*  
\* \*

Résumons les arguments qui, à l'heure actuelle, plaident en faveur de la conception d'après laquelle l'agent étiologique de la parasyphilis serait une variété à part du *Treponema pallidum* :

1° Évolution clinique et anatomo-pathologique particulière de la maladie de Bayle et du tabes;

2° Contraste entre la légèreté des accidents primaires et

secondaires, d'une part, la gravité des manifestations neurotropes, d'autre part, chez les paralytiques généraux;

3° Rareté de la paralysie générale et du tabes chez les habitants des pays tropicaux, dont la syphilis habituelle est grave;

4° Contamination à la même source;

5° Inefficacité du traitement;

6° Propriétés biologiques du tréponème neurotrope;

7° Difficulté que rencontrent les tentatives de transmission de ce tréponème aux animaux d'expérience, et évolution spéciale de l'infection chez ces animaux, dans les rares cas où les résultats ont été positifs (Levaditi et Marie, Plaut et Mulzer);

8° La morphologie particulière du tréponème neurotrope, mise en lumière par les études histologiques de Bravetta (1) et de Bertolucci (2).

Ce faisceau de présomptions et de preuves tend à montrer que *la parasymphilis est une manifestation à part de l'infection spirochétienne, provoquée par des variétés de tréponèmes qui diffèrent, au point de vue biologique et morphologique, des multiples variétés rencontrées au cours des manifestations habituelles de la syphilis cutanée, muqueuse et viscérale.* Que ces propriétés biologiques et morphologiques soient innées, ou progressivement acquises, peu importe. L'hypothèse du neurotropisme, comme toute hypothèse, est susceptible de modifications; elle évoluera au fur et à mesure que de nouveaux faits viendront enrichir nos connaissances à ce sujet. Quelle que soit sa destinée, nous revendiquons le mérite d'en avoir été les promoteurs.

Ajoutons, pour finir, que la découverte des ultravirus neurotropes de l'herpès et de l'encéphalite, et la notion des *ectodermoses neurotropes* (Levaditi) a permis d'établir l'antagonisme entre l'affinité cutanée et neurotrope de ces virus. L'affinité du germe pour le revêtement cutané (segment externe de l'ectoderme) se développe au détriment de l'affinité pour le névraxe (segment invaginé du même ectoderme), et

(1) BRAVETTA. *Bull. della Società Medico-chirurgica di Pavia*, 1921, 34, fasc. 1-2.

(2) BERTOLUCCI. *Rassegna di Studi psichiatri*, 10, fasc. 5-6. p. 221; *L'Encéphale*, mai 1922, p. 318.



inversement. Le fait n'est pas sans offrir d'analogies frappantes avec ce qui a lieu dans la parasyphilis. Voici comment Levaditi, Harvier et Nicolau s'expriment à ce sujet, à la fin de leur Mémoire concernant l'étude de l'encéphalite léthargique (Ces *Annales*, 1922, 36, p. 4) :

« On saisit facilement la ressemblance entre ce neurotrope et celui du *Treponema pallidum*. Levaditi et Marie ont montré que plus le tréponème offre de tendance à se localiser sur l'axe cérébro-spinal, pour y provoquer la paralysie générale et le tabes, moins il est apte à s'attaquer à l'épiderme cutané et muqueux. L'opposition qui sépare les deux variétés dermatrope et neurotrope du tréponème existe également entre la variété herpétique et encéphalitique du germe filtrant de la maladie de v. Economo. Elle a sa raison d'être dans l'affinité tissulaire diverse de ces germes. »

### LÉGENDES DE LA PLANCHE III

FIG. 1 à 5. — *Evolution du syphilome provoqué par le VIRUS FA* (p. 194). FIG. 1 : aspect le 2 février 1922 ; FIG. 2 : aspect le 2 février, après détachement de la croûte ; FIG. 3 : aspect le 14 février ; FIG. 4 : aspect le 21 février ; FIG. 5 : aspect le 28 février.

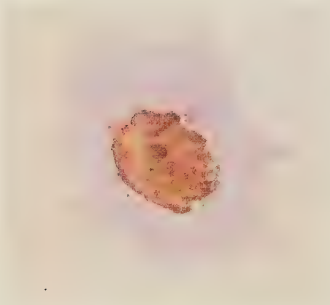
FIG. 7 à 11. — *Evolution du syphilome provoqué par le VIRUS FB* (p. 195). FIG. 7 : aspect le 2 février 1922 ; FIG. 8 : aspect le 2 février, après détachement de la croûte ; FIG. 9 : aspect le 14 février ; FIG. 10 : aspect le 21 février ; FIG. 11 : aspect le 28 février.

FIG. 13 à 17. — *Evolution du syphilome provoqué par le VIRUS TRUFFI* (p. 194). FIG. 13 : aspect le 22 mars 1922 ; FIG. 14 : aspect le 28 mars ; FIG. 15 : aspect le 4 avril ; FIG. 16 : aspect le 12 avril ; FIG. 17 : aspect le 18 avril.

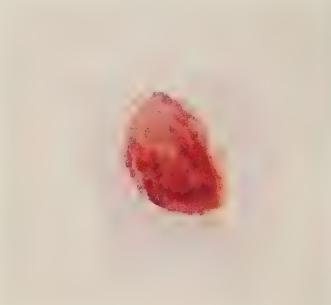
FIG. 18 à 22. — *Evolution d'un syphilome provoqué par le VIRUS FA* (p. 194).

FIG. 6, 12 et 23. — *Evolution du syphilome provoqué par le VIRUS R* (p. 192). FIG. 6 : aspect le 17 janvier 1920 ; FIG. 12 : aspect le 7 février ; FIG. 23 : aspect le 15 février.

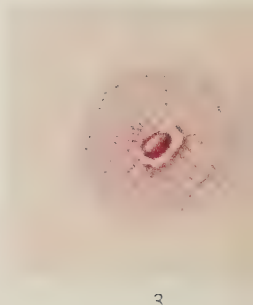




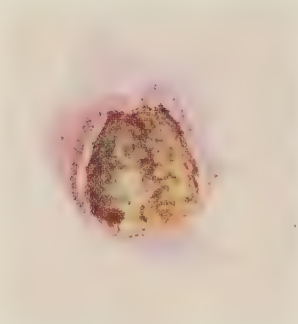
1



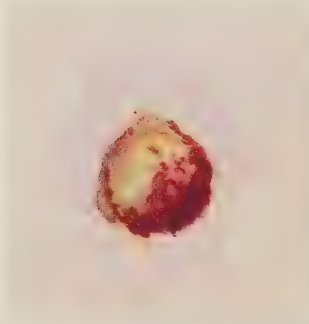
2



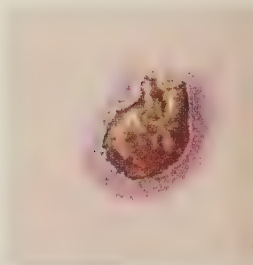
3



7



8



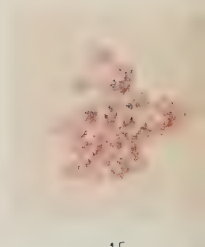
9



13



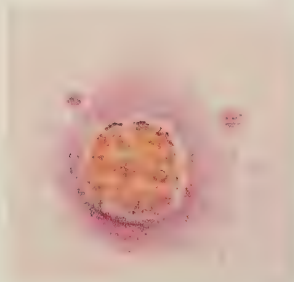
14



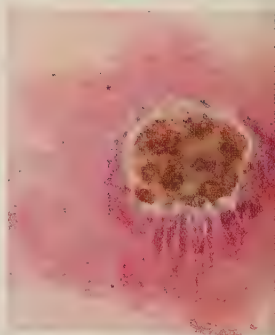
15



18



19



20



4



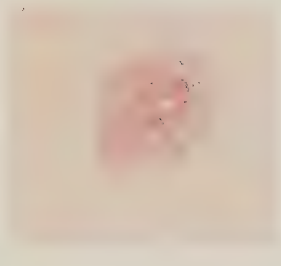
5



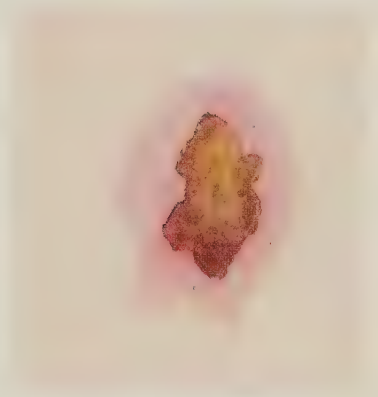
6



10



11



12



16



17



21



22



23





**NOTE SUR UNE FORME ANORMALE  
DE CHARBON CUTANÉ  
(FORME NÉCROTIQUE D'EMBLÉE)**

par le D<sup>r</sup> C. MOREL,

professeur à la Faculté de Médecine de Toulouse.

Il est admis, depuis la publication du mémoire d'Enaux et de Chaussier et de celui de Bourgeois, que la Pustule maligne et l'Œdème malin sont, chez l'homme, les seules manifestations du charbon cutané. Nous avons eu, dans ces derniers temps, l'occasion d'observer un cas de charbon cutané, dont les caractères ont été très différents de ceux de la Pustule maligne et de l'Œdème malin, l'observation, étant intéressante pour le diagnostic des infections charbonneuses, fait l'objet de cette courte note.

Le 24 septembre, X..., ouvrier fourreur, qui, au cours des jours précédents, avait manipulé des peaux de chèvre importées du Portugal, éprouve de légères démangeaisons au-dessous de l'omoplate gauche et, à ce niveau, les personnes de son entourage auraient vu une lésion cutanée ressemblant à une piqûre de puce.

Le lendemain, X... se rend à son travail, mais dans le courant de la journée il a de la courbature, des frissons et de la fièvre.

Le 30, je vois le malade pour la première fois: Il présente au niveau de l'angle de l'omoplate une tache de coloration noirâtre, qui, grande comme une pièce de cinq francs, ressemble à une suffusion sanguine; à son centre, on voit une petite érosion très superficielle, qui intéresse à peine l'épiderme dont les dimensions ne dépassent pas celles d'une tête d'épingle, et qui est très vraisemblablement une lésion de grattage.

Le 1<sup>er</sup> octobre, la tache ecchymotique est grande comme la paume de la main. Elle est entourée, dans une zone large de 7 à 8 centimètres, par un gonflement œdémateux, mou, comme tremblotant. La peau, qui recouvre cette enflure, est lisse, distendue, de coloration blanchâtre, à demi transparente. Cet empatement est très nettement limité à la périphérie par un bourrelet saillant. Le malade n'éprouve aucune douleur. Les ganglions axillaires ne sont pas engorgés.

Injection d'eau iodée à 5 p. 100 dans la zone œdématisée, et application de pointes de feu profondes dans la partie centrale d'apparence ecchymotique.

Un prélèvement fait avec une pipette au fond d'une de ces pointes de feu

amène quelques gouttes de sang noirâtre; l'examen au microscope de ce sang étalé sur lames montre, après coloration, de très nombreux microcoques groupés en amas et de très rares bacilles ressemblant à la bactérie de Davaine. Les ensemencements sur gélose et en bouillon permettent d'isoler, dès le lendemain, du staphylocoque doré et la bactérie.

Le 2 au matin, l'état général du malade est très grave : Dyspnéique, anhélant et cyanosé, il a des vomissements répétés, de l'agitation, du délire, des lipothymies et, au moindre effort, des syncopes. La fièvre est élevée (température axillaire : 39°5).

Les lésions cutanées sont plus étendues encore que la veille : les dimensions de l'escarre centrale dépassent maintenant celles de la main, et l'œdème occupe toute la partie gauche du thorax.

Dans la soirée, l'état général du malade paraît moins mauvais, le facies est moins altéré, le délire a cessé, la dyspnée est moins accusée, le pouls est plus plein et moins fréquent.

On constate aussi une modification très apparente de la lésion locale : l'œdème blanc a disparu et toute la partie postérieure gauche du thorax, depuis le cou jusqu'à la crête iliaque, a pris une teinte érysipélateuse intense. Cette éruption s'étend aussi sur le côté droit du tronc, où on voit des taches isolées d'apparence morbillieuse, qui tendent à devenir confluentes en se rapprochant du rachis.

Injection de sérum anticharbonneux.

Le 3, l'amélioration est plus manifeste encore. La rougeur érysipélateuse a pâli.

Le 4, cette rougeur érysipélateuse s'est complètement effacée. L'état général est devenu excellent. La température, qui jusqu'alors avait oscillé autour de 39°, est descendue à 37°5.

Dans les jours suivants, la zone de mortification que limite un contour légèrement déchiqueté, prend une coloration chamois, apparaît comme étant de plus en plus sèche, et ressemble à un morceau de cuir de Cordoue enchâssé dans les téguments.

Puis, autour de cette partie mortifiée, il se fait un sillon d'élimination. Enfin, le 1<sup>er</sup> novembre, l'escarre se détache en bloc. Elle laisse à sa place une énorme perte de substance, qui occupe toute la moitié gauche du dos depuis la pointe de l'omoplate jusqu'à la base de la poitrine. Ses bords sont taillés à pic, son fond est rouge et bourgeonnant. La cicatrisation se fait assez rapidement et la guérison est complète fin décembre.

En résumé, chez le malade faisant l'objet de cette note, le charbon cutané a évolué sans pustule maligne, sans aréole secondaire, sans phlyctènes; les expressions symptomatiques ont été complètement différentes de celles par lesquelles il se traduit communément : la Pustule maligne ou l'Œdème malin.

La lésion a été essentiellement constituée, dans ce cas particulièrement, par une mortification étendue des téguments, par une large escarre, et, seul, le gonflement œdémateux périphérique, qui présentait tous les caractères de l'œdème charbonneux, a permis de faire le diagnostic.



Cette forme nécrotique d'emblée du charbon cutané n'avait peut-être pas échappé à l'attention des anciens auteurs, mais, depuis lors, elle semble avoir été complètement méconnue, et la réalité même de son existence a été niée par Bourgeois : « Je ne voyais jamais, dit-il, ces gangrènes si étendues dont parlent les ouvrages de médecine... Lorsque ces immenses escarres existent, elles sont ou le résultat d'un traitement trop peu ménagé, ou celui des accidents gangreneux secondaires. »

*Le Gérant : G. MASSON.*



